

集中治療・救急医療における薬剤師の役割に関する研究

2013 年

安藝 敬生

投稿論文

ICU/CCU における薬剤師介入によるプレアボイド事例の解析
安藝敬生, 八塚理恵, 裕健三, 今給黎修, 首藤英樹, 平川雅章, 片岡泰文
Journal of Japanese Society for Emergency Medicine. 2010 ;36 :674-9.

Carbazochrome sodium sulfonate (AC-17) reverses endothelial barrier dysfunction through inhibition of phosphatidylinositol hydrolysis in cultured porcine endothelial cells.
Sendo T, Itoh Y, Aki K, Oka M, Oishi R.
Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2003 ;368(3):175-80.

Carbazochrome attenuates pulmonary dysfunction induced by a radiographic contrast medium in rats.
Sendo T, Goromaru T, Aki K, Sakai N, Itoh Y, Oishi R.
Eur J Pharmacol. 2002 ; 450(2):203-8.

救急・集中治療におけるバンコマイシン(VCM)血中濃度管理への専任薬剤師の関与
安藝敬生, 樋口則英, 中川博雄, 中村忠弘, 田崎修, 榎田徹次, 北原隆志, 佐々木均
Journal of Japanese Society for Emergency Medicine

序論

医療の高度化の急速な発展によりチーム医療における医療スタッフと薬剤師のますます強い連携が求められている。病院における薬剤師の業務は、これまでの調剤や医薬品管理等の薬剤部内での業務に加えて、薬剤管理指導を通じて病棟での業務も増加している。病棟での役割は、患者に対する服薬指導だけではなく、医師を含めた様々な医療スタッフへの情報提供や患者独自への処方提案、配置医薬品の管理など、リスクマネージメントの観点からもその責任は重いものとなってきた。

集中治療・救急医療領域で治療を受けている患者は、多種多様の重症疾患を抱えたうえ、心機能、腎機能、肝機能、呼吸機能など様々な臓器機能が低下している。集中治療・救急医療領域において年々治療法が進歩していく中で、このような患者に対して、各職種の医療スタッフがチームを組み、その専門性をもって治療の質、安全性の向上を図ることは非常に重要と考えられる。集中治療・救急医療領域における治療の中では薬物療法の占める割合が大きいことに加え、作用が急激な注射剤の多種併用、患者の状態に応じたきめ細かな投与薬剤・投与量の変更、劇薬・毒薬の使用頻度の高さなどから、薬剤師が集中治療・救急医療領域における医療チームの一員として積極的にその職能を発揮することが必要とされていることは明白である。このような背景をもとに、平成 19 年に厚生労働省から発表された「集中治療室 (ICU) における安全管理について (報告書)」において、ICU における薬剤師の関与指針が明確化された。平成 20 年 4 月の診療報酬改定に伴い、ICU に入室した患者に対しても薬剤管理指導料の算定が可能となり、ICU における薬剤師業務に対する期待はますます加速してきた。また、こうした状況を背景に、認定制度の必要性の認識が高まってきたことから、業務の標準化や質の向上を後押しすることを目的に日本臨床救急医学会において救急認定薬剤師制度を創設され、各施設において救急医療、集中治療チームの一員として薬剤師が急性期患者の薬物療法に参画している。

一方で、畝井らの報告によると集中治療・救急医療領域において薬剤師業務を実施している施設は 39.4%であり、専任薬剤師を配置し本格的な業務を行っている施設は 21.2%と低い。さらに、救急医療体制は施設間において若干の違いが存在することや、この領域における薬剤師業務の歴史が浅いこともあり薬剤師業務はまだ確立しているとはいえず、その業務基準や業務の評価は明確となっていない。

そこで、本研究では第 1 章において集中治療・救急医療領域における専任薬剤師の薬物療法への介入による患者不利益の回避 (プレアボイド) 事例について解析し、薬物療法への貢献、医薬品使用に伴うリスク回避への貢献を評価した。第 1 章の結果事例であった薬剤誘発の静脈炎に関連して、第 2 章では、専

任薬剤師導入以降の念密な患者観察によりニカルジピン注射剤の添付文書の記載を超えた静脈炎発生頻度を発見し、その予防・回避対策を早急に構築する目的に静脈炎の危険因子について解析、検討を行った。また、第 3 章にて集中治療・救急医療領域において、心筋梗塞に対する心臓カテーテル検査や脳梗塞に対する脳血管造影、出血源や感染巣探索目的等の造影 CT 時に、使用される頻度の高い血管造影剤投与後に起こる極めて稀であるが重篤な致死的作用である肺障害に対して効果的な予防法、治療法を検討した。第 3 章にてラット肺を用いてカルバゾクロムスルホン酸ナトリウムの造影剤誘発肺障害に対する効果を示し、さらに培養ブタ大動脈血管内皮細胞 (PAECs) を用い、造影剤誘発の肺障害の主役を担うトリプターゼ (Sendou et al., 2003-a) による血管内皮細胞透過性亢進に対するカルバゾクロムスルホン酸ナトリウムによる保護効果の詳細なメカニズムについて検討した。第 4 章では、第 1 章において特に関与する機会の多かったバンコマイシン投与設計に着目し、集中治療・救急医療領域において専任薬剤師が積極的な介入することにより、バンコマイシン血中濃度の適正な治療域の維持、中毒症の回避が可能となるか検討した。

第1章 ICU/CCU における臨床薬剤師活動の解析～プレアボイド症例の解析～

緒言

患者に有効で安全な薬物療法を提供することは、薬剤師にとって最も重要な職務である。病院における薬剤師業務は、調剤・院内製剤・医薬品管理などの薬剤部内での業務に加え、実際の医療行為が行われる病棟での薬剤管理指導・医薬品情報提供などの業務が定着してきた。病棟における薬剤師は、患者の服薬をサポートするための服薬指導だけではなく、その場で使用される医薬品に関するリスク回避の点においてもチーム医療には欠かせない存在となってきた（1）-3）。

集中治療室で治療を受けている患者は、心臓・腎臓・肝臓などの臓器障害や、呼吸機能・血液凝固系の異常をきたしている場合が多く、常に生死の危機の下で医薬品の投与が行われる。また、病状も刻一刻と変化するため、医薬品の適正使用（処方設計）、医薬品使用に伴うリスクの回避、医薬品情報提供など、薬剤師のチーム医療への積極的参画が特に強く望まれている（4）5）。このようなICU/CCUにおける薬剤師関与の認識が高まるなかで、平成20年4月の診療報酬改訂に伴い、新たに「救急救命入院料等を算定している患者」に対する薬剤管理指導料の算定も認められ、高度先進医療における薬剤師の位置づけが明確となった。また、こうした状況を背景に、認定制度の必要性の認識が高まってきたことから、業務の標準化や質の向上を後押しすることを目的に日本臨床救急医学会が救急認定薬剤師制度の構築を進めることも決定した。

福岡徳洲会病院（以下、本院）においては、平成17年9月より薬剤師1名がICU/CCUに常駐し、薬剤管理指導業務、医薬品管理、医療スタッフへの情報提供などの薬剤師活動を行なっている。

今回、我々はICU/CCU専任薬剤師が病棟における業務中に行なったプレアボイド症例を分類・解析し、医薬品使用に伴うリスク回避の観点から、ICU/CCUにおける薬剤師業務の重要性を評価した。

方法

I）ICU/CCU入室患者の調査

ICU/CCUにおける疾患の多様性・特殊性を評価するため、平成20年1月-平成20年12月の1年間におけるICU/CCU入室患者の診療科、疾患名を調査した。また、ICU/CCUにおける緊急性を評価するため、ICU/CCU入室患者の入室理由を調査した。

II）プレアボイド症例の解析

ICU/CCU担当薬剤師が平成20年10月-平成21年6月の8ヶ月間に行なったプレ

アボイド症例について、リスク内容別分類、薬学的ケア別分類、診療科別、プレアボイド様式別分類及び薬効別分類の解析を行なった。

結果

I) ICU/CCU 入室患者の調査

① ICU/CCU 入室患者の診療科及び疾患名

調査期間 1 年間の ICU/CCU 入室患者は計 1149 名（月平均 95 名）であった。対象診療科は 10 科にわたり、疾患も多岐であった。特に、循環器内科は最も高い割合（35.9%）を示し、代表的な疾患は虚血性心疾患（心筋梗塞、不安定狭心症など）、慢性うっ血性心不全、急性大動脈解離などであった。次に、脳神経外科が高い割合（30.1%）を示し、代表的な疾患はくも膜下出血、脳出血、脳梗塞、急性硬膜下血腫の順であった。以下、内科（慢性腎不全増悪、敗血症、糖尿病性ケトアシドーシス、薬物中毒など）10.7%、外科（消化管穿孔、胆管癌、重症急性膵炎、肝細胞癌など）9.7%、胸部心臓血管外科（心臓血管バイパス術後、弁置換術後、大動脈解離など）9.1%、泌尿器科（腎細胞癌、前立腺癌、膀胱癌など）2.3%、形成外科 0.8%、小児科 0.7%、婦人科 0.3%、整形外科 0.3%の順であった（図 1、表 1）。

② ICU/CCU 入室患者の入室理由

ICU/CCU 入室患者の入室理由は、救急救命室（Emergency Room：ER）からの救急搬入が 66.0%と最も多く、予定手術後の患者が 27.4%を占めた。一方、一般病棟からの緊急搬入は 6.6%であった（図 2）。

II) プレアボイド症例の解析

調査期間 8 ヶ月間（薬剤師常駐日数 175 日間）での総プレアボイド件数は 137 件（月平均 11 件）であった。なお、全ての症例について、既に日本病院薬剤師会医薬情報委員会プレアボイド報告評価小委員会に報告済みである。

① リスク内容別分類

リスク内容別分類では、「副作用」が 30 件（21.9%）、「未治療な病態に対する薬物療法支援」が 17 件（12.4%）、「配合変化」が 17 件（12.4%）、「腎機能低下による過量投与」が 14 件（10.2%）、「不適切な投与経路」が 11 件（8.0%）と、プレアボイドのリスク内容は非常に多岐の項目にわたっていた（図 3）。

② 薬学的ケア別分類

薬学的ケア別分類では、「薬剤追加」が 36 件（26.3%）と一番多く、次いで「薬剤中止」が 26 件（19.0%）、「投与経路変更」が 23 件（16.8%）、「薬剤変更」が 17 件（12.4%）で、「薬剤減量」、「用法変更」、「薬剤増量」などが合わせて 37 件であった（図 4）。

③ 診療科別分類

診療科別分類では、脳神経外科が 36.5% (50 件)、循環器内科が 26.3% (36 件)、外科 16.8% (23 件)、胸部心臓血管外科 10.9% (15 件)、内科が 5.8% (8 件) と、外科系においてやや入室患者あたりのプレアボイド件数があがったが、ほぼ Fig. 1 の診療科別 ICU/CCU 入室患者と同様の割合を示した (図 5)。

④ プレアボイド報告様式別分類

プレアボイド報告様式別分類では、「未然回避」が 83.2%と高い値を示し、「重篤化回避」は 16.8%であった (図 6)。

⑤ 薬効別分類

薬効別分類では、消化器用薬 29 件 (21.1%)、抗菌薬 24 件 (17.5%)、循環器用薬 18 件 (13.1%)、電解質補正用剤 17 件 (12.4%)、輸液・栄養用剤 13 件 (9.5%) と、どの診療科においても共通する薬剤使用に対するプレアボイドが多数を占めた (図 7)。

考察

病棟薬剤師は、薬剤管理指導業務を充実させることで、医薬品の適正使用の推進を行い、良質な医療の提供に寄与してることが期待されている。ICU/CCU における薬剤師の業務も基本的には病棟での薬剤管理指導業務と同じと考えられる。しかし、図 1, 2、表 1 からわかるように、ICU/CCU では、幅広い種々の疾患の患者、さらには緊急に迫られた重症な患者の入室が多い。したがって、ICU/CCU において質の高い薬剤師活動を実践するためには、広範囲の薬学的知識とともにリアルタイムの薬学的判断能力が不可欠と考えられる。

本調査では、ICU/CCU での薬剤師の良質な薬物療法への寄与を評価するため、ICU/CCU 専任薬剤師が病棟における業務中に行なったプレアボイド症例を解析し、薬剤師に期待される役割を明確にすることを試みた。

調査期間 8 ヶ月間に ICU/CCU 専任薬剤師が行なったプレアボイド症例は合計 137 件であった。プレアボイド症例のリスク内容別分類 (図 3) では、「副作用」が最も多く、これは ICU/CCU では急速に作用を発現する注射剤を投与する機会が多いことを反映したものと考えられる。例えば、低蛋白血症併発に伴う浮腫改善目的に 25%アルブミン製剤 100ml を 1 時間で点滴の指示が出たところ、担当薬剤師がその時点でインタビューフォームより循環血漿量の急激な上昇によりうつ血性心不全等を引き起こす可能性を指摘し、100ml を 2 時間 (1ml/分以下) で点滴することを提案し投与時の副作用の出現を回避した。また、ヘルペス脳炎にて緊急搬入され、すぐにアシクロビル注射剤 700 mgを生食 100ml で溶解し投与が開始された症例では、担当薬剤師がその後すぐに患者観察にて投与周辺静脈の水疱形成に気付く (患者は意識障害があり訴えが出来なかった)、アシクロビル注射剤による静脈炎を疑い、添付文書に従い溶解液量を 250ml とすること

を提案し、その後の静脈炎の新たな発生及び増悪なく投与終了した。このような注射剤投与時の副作用リスクが多く、回避するためにはタイミングが非常に重要であり、一刻を争う。常駐すること及びこのような特徴に意識を払うことで、投薬指示や投与開始に立ち会うことができ、副作用の回避に大きく貢献できると考える。また、種々のストレス潰瘍リスクに対する消化器用薬の予防投与の欠如、ICU/CCU 入室に伴う不眠・排便障害に対する処方提案、状態が安定してきた後の既往疾患への投薬再開など、「未治療な病態に対する薬物療法支援」に関連するプレアボイド事例も多く、薬剤師による処方チェックや処方提案が不可欠であると考えられる。これは、図 4 の薬学的ケア別分類において、「薬剤追加」が最も多くなっている結果にも反映されている。一方で、「薬剤中止」という薬学的ケアを行った例も 2 番目に多く、ICU/CCU では患者の状態変化が急激であるために、投与が必要となる薬剤もあれば、中止しなければならない薬剤もあることを常に意識すべきである。抗菌薬や消化器用薬など副作用が少ないという理由で効果が必要とされる期間を超えて投与される傾向があり、薬剤費の削減という観点も加えて、医師や看護師とともに投与の必要性を考えていく必要がある。

プレアボイドの診療科別分類（図 5）では、外科系診療科において入室患者当たりのプレアボイドの割合は高くなる傾向となったものの、図 1 の診療科別 ICU/CCU 入室患者とほぼ相違ない結果となった。つまり、ICU/CCU においては特定の診療科に限定せずに全診療科において薬剤関連のリスク回避が必要であることが示唆される。プレアボイド報告別分類（図 6）では「未然回避」が大きな割合を示したが、患者の意識レベルが悪いことが多いため、患者の訴えに頼ることができず、看護師と共同での患者観察、短期間で変動する検査値などの患者情報の確認、医師の指示出し時点での処方チェックなどを強化した結果と考えられる。

プレアボイドの対象となった薬効別分類では、消化器用薬、抗菌薬、循環器用薬、電解質補正用剤の順（図 7）で、これは処方頻度の高さを反映しているものとする。特に、抗菌薬については薬剤選択、投与量、投与期間に関するプレアボイドが多い。ICU/CCU での感染症に対する治療の遅れは致命的となる危険性があるため、エンピリックな治療が主体となる。それ故、積極的な de-escalation の推進や投与期間の確認など薬剤師による抗菌薬適正使用に関する働きかけは非常に重要と考える。電解質用剤については、ICU/CCU では特に頻回の血清カリウム値のチェックの下にカリウム製剤の投与が行われ、速度に関しては意識が統一されているものの、末梢ルートからの投与濃度についての認識は低く、薬剤師より適正濃度を提案する機会が多かった。また、急性期を脱し嚥下可能となった後の栄養製剤でのカリウム補給への切り替えの処方提案や、リン補正剤

投与に伴う配合変化の回避などがあった。本院では薬剤師による輸液類の病棟内での混合はまだ行っていないが、配合変化や溶解濃度などに対して薬剤師によるチェック機構を機能させるためには、今後、注射剤の混合についても検討を行う必要があると考えられる。

ICU/CCUにおける薬剤師業務が発展するに伴い、その業務内容についての具体的な評価も行われるようになってきた6) 7)。今回、ICU/CCU専任薬剤師によるプレボイド症例を解析することで、ICU/CCUにおける薬剤師の必要性及び果たすべき役割が明確となった。今後さらに、ICU/CCUにおける薬剤師活動の評価を行い、柔軟な業務改善を行っていくことにより ICU/CCUにおいて薬剤師がチーム医療の一員として真に薬物療法に寄与できるものとする。

引用文献

- 1) 中村敏史, 遠山幸男, 加藤さおり, 行田峰久, 薬剤師病棟常駐化による医療安全と医薬品情報提供への貢献, 日病薬誌, 45, 1119-1122 (2009)
- 2) 大井一弥, 片山歳也, 藤岡満, 薬剤管理指導業務における薬学的協議の実践-処方変更の観点から-, 医療薬学, 29, 107-110 (2003)
- 3) 若杉博子, 中桐真樹子, 石井淳子, 金子育代, 高橋一栄, 矢野育子, 乾賢一, 薬剤管理指導での医薬品情報提供に基づく薬物治療への介入とその評価, 医療薬学, 29, 415-420 (2003)
- 4) L. K. Sandra, J. W. Robert, F. D. Joseph, The impact of critical care pharmacists on enhancing patient outcomes, Intensive Care Med., 29, 691-698 (2003).
- 5) L. L. Lucian, J. C. David, D. C. Margaret, B. Elisabeth, J. D. Harold, I. E. Jeanette, W. S. David, Pharmacist participation on physician rounds and adverse drug events in the intensive care unit, JAMA., 282, 267-270 (1999).
- 6) 宮崎智雄, 関根祐子, 青山隆夫, 安野信浩, 中村均, 山田安彦, 伊賀立二, ICU/CCUにおける薬剤業務の展開と他の医療スタッフからの評価及び問題点の解析, YAKUGAKU ZASSHI, 124, 279-286 (2004).
- 7) 丹羽隆, 後藤千寿, 杉山正, 片桐義博, ICUにおける薬剤師による医薬品情報とその評価, 医療薬学, 32, 400-406 (2006)

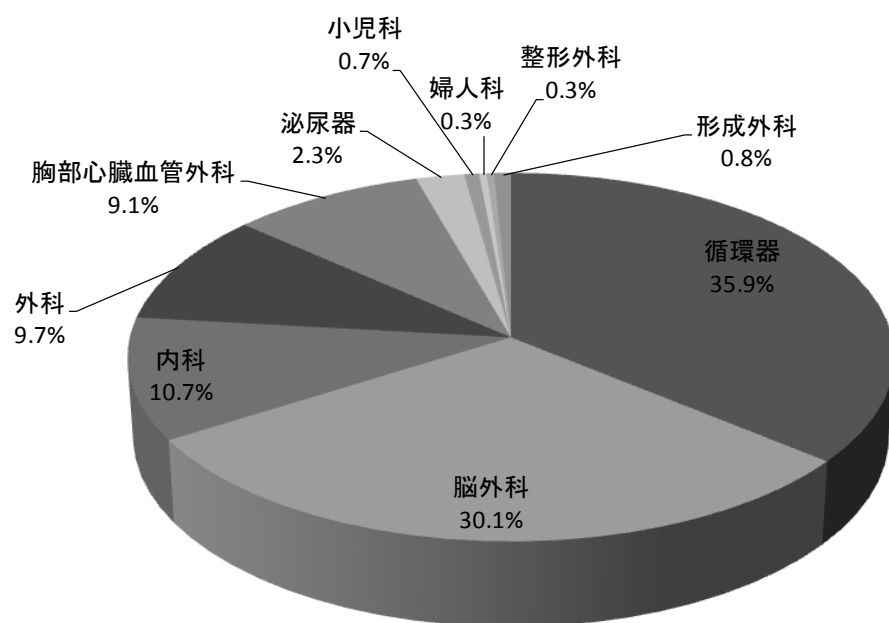


図 1 診療科別 ICU/CCU 入室患者

診療科名	代表疾患
循環器	虚血性心疾患(238)、うっ血性心不全(111)、急性大動脈解離(14)、徐脈(11)、肺塞栓(6)など
脳神経外科	くも膜下出血(66)、脳出血(55)、脳梗塞(35)、急性硬膜下血腫(29)、内頸動脈狭窄症(29)、未破裂 脳動脈瘤(24)など
内科	慢性腎不全(19)、糖尿病性ケトアシドーシス(13)、敗血症(12)、薬物中毒(9)、心肺蘇生後(5)など
外科	胆管癌(8)、S状結腸穿孔(7)、消化管穿孔(6)、肝細胞癌(6)、重症膵炎(4)、肝損傷(4)など
胸部心臓血管外科	虚血性心疾患(44)、急性大動脈解離(17)、僧帽弁三尖弁閉鎖不全症(9)、大動脈弁閉鎖不全症(5)、感染性心内膜炎(5)など
泌尿器科	腎細胞癌(7)、前立腺癌(7)、膀胱癌(4)、尿管腫瘍(4)など
形成外科	足壊死(6)など
小児科	肺炎(2)、心肺蘇生後(2)など
婦人科	卵巣腫瘍(2)など
整形外科	右膝化膿性関節炎(2)など

() 内は患者人数

表 1 ICU/CCU 入室患者診療科別対象疾患

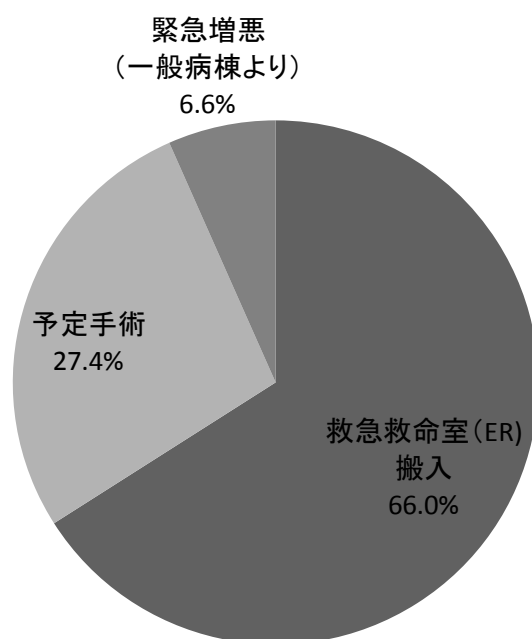


図 2 ICU/CCU 入室理由

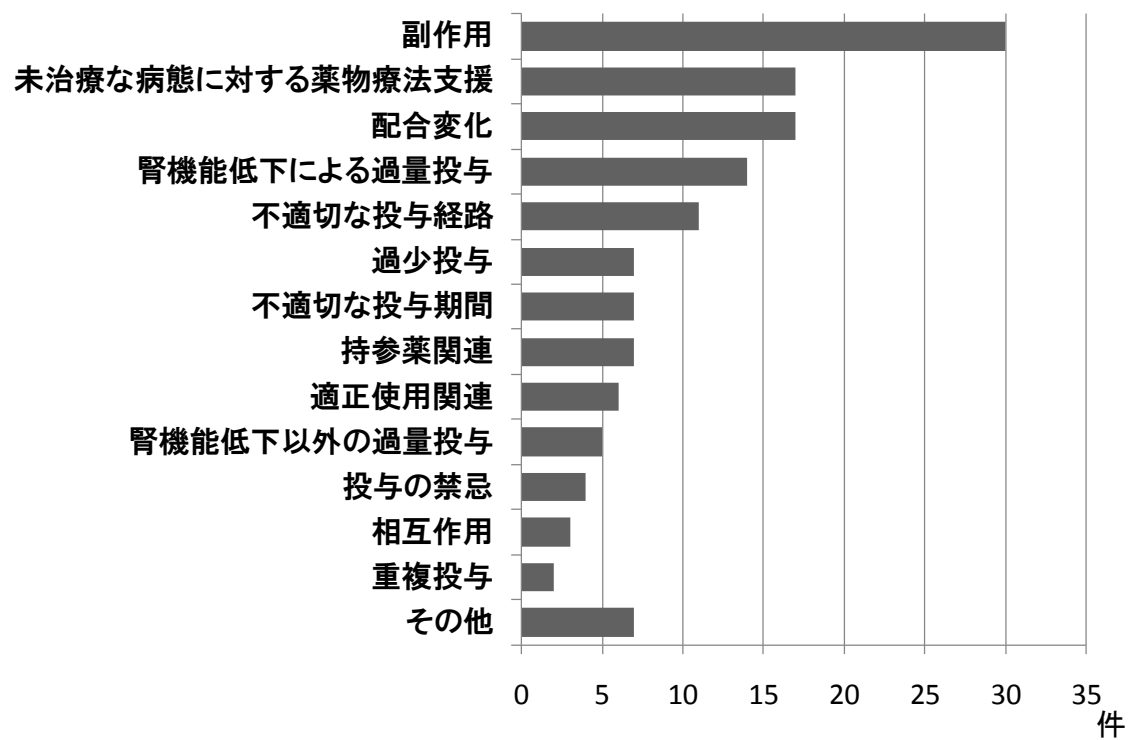


図3 プレアボイドリスク内容別分類

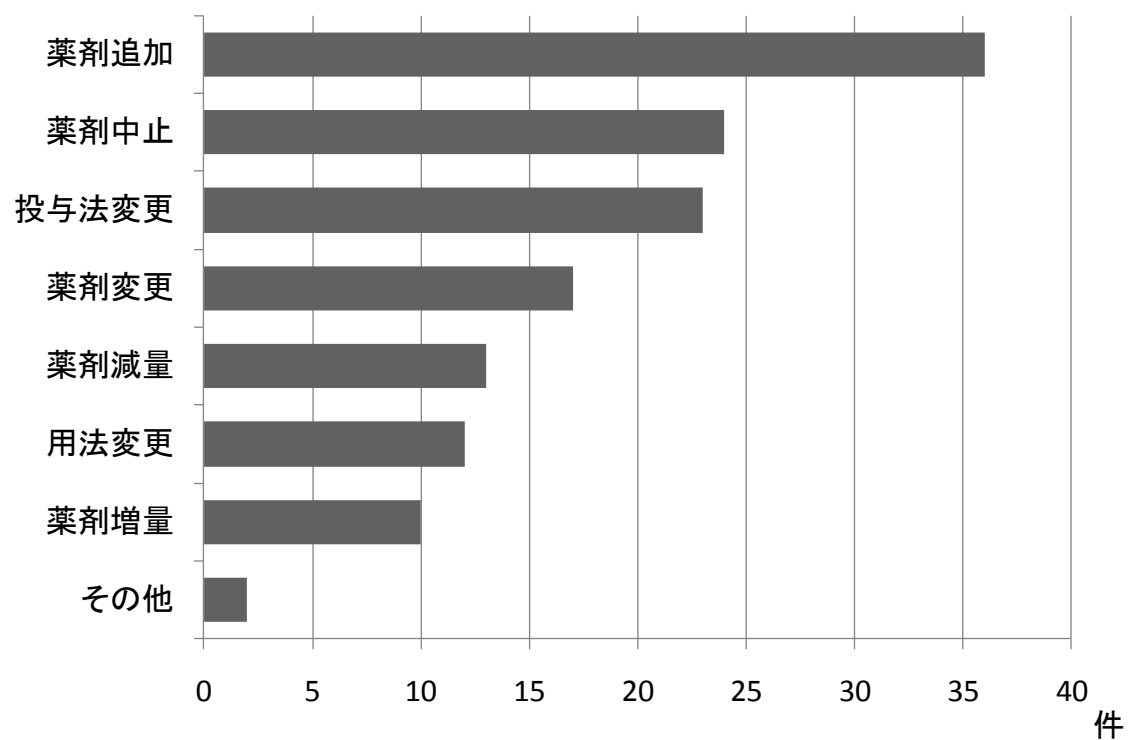


図 4 プレアボイド薬学的ケア別分類

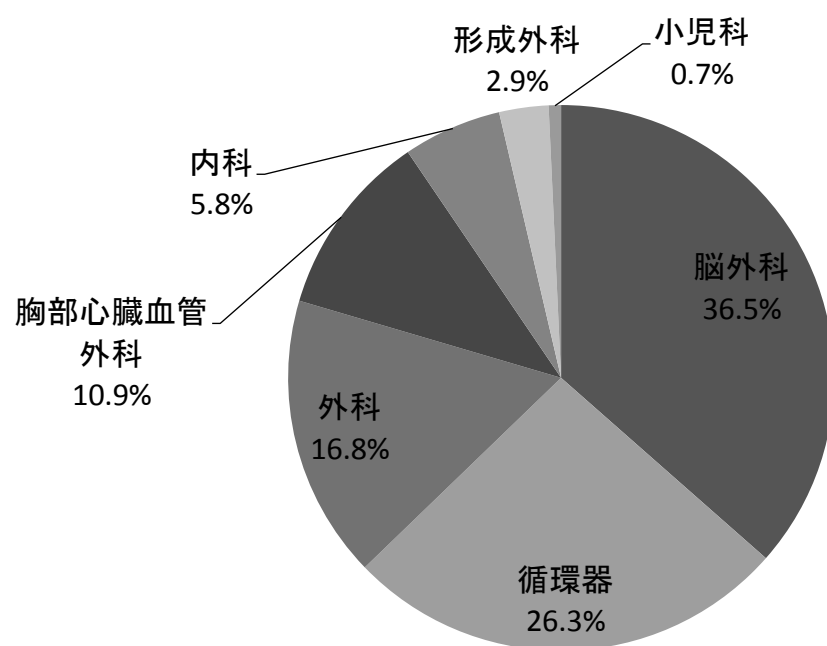


図 5 プレアボイド診療科別分類

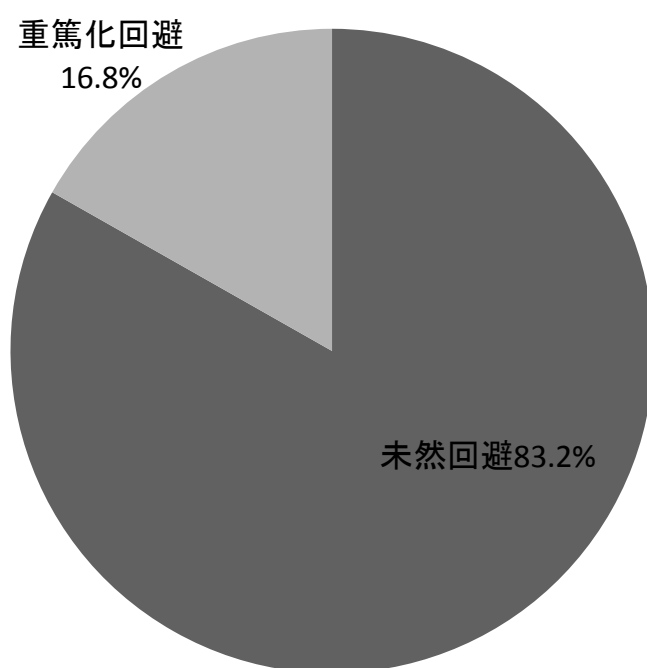


図 6 プレアボイド報告様式別分類

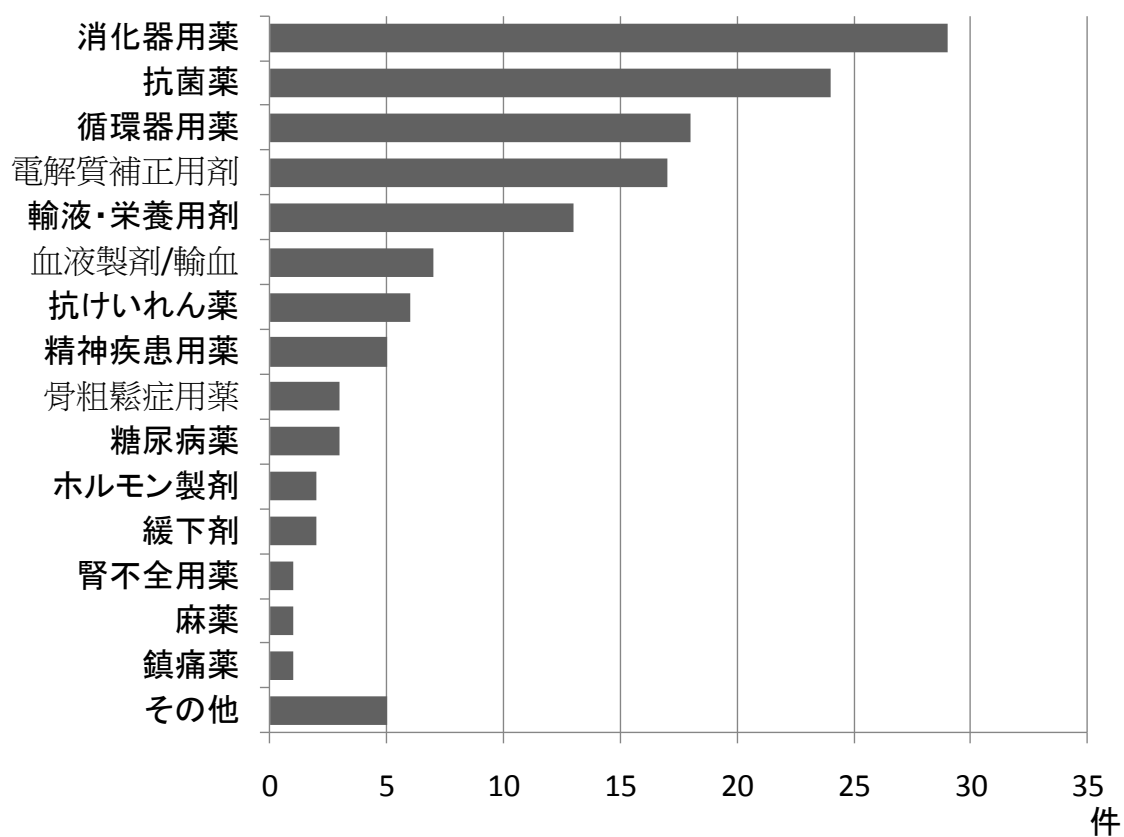


図 7 プレアボイド対象薬効別分類

第2章 高血圧性緊急症患者におけるニカルジピン注射液点滴投与による静脈炎の発症頻度と危険因子に関する前向き観察研究

緒言

高血圧性緊急症は単に血圧が異常に高いだけの状態ではなく、血圧の高度の上昇（多くは180/120mmHg以上）によって、脳、心、腎、大血管などの標的臓器に急性の障害が生じ進行している病態であり、迅速に診断し、直ちに降圧治療を始めなければならない¹⁾。緊急症では入院治療が原則で、集中治療室（ICU）かそれに類する環境下で観血的に血圧をモニターしながら、原則として経静脈的に降圧を図ることが必要である。治療薬としては、降圧の程度や速度が予測でき、かつ即時に調整が可能な薬物が望ましく、本邦で高血圧緊急症の降圧治療に使用できる注射薬としては、ニカルジピン、ジルチアゼム、ニトログリセリン、ニトロプルシッドナトリウム、ヒドララジン、フェントラミン、プロプラノロールがある¹⁾。緊急症には、高血圧性脳症、急性大動脈解離を合併した高血圧、肺水腫を伴う高血圧性左心不全、高度の高血圧を伴う急性心筋梗塞や急性冠症候群、褐色細胞腫クリーゼ、子癇などが該当するが、ニカルジピンはその効果発現が速やかで、かつ用量調節も比較的容易であるため、ほとんどの緊急症に使用される¹⁻⁵⁾。しかしながら、緊急投与のため確保しやすい末梢静脈ルートからの持続点滴投与によって惹起される投与部位周辺の静脈炎の発生が臨床上問題⁶⁻⁷⁾となり、重症化や頻回の発生に伴う患者の忍容性低下により投与を中止せざるを得ない例が多々見受けられる。

ニカルジピン注射液点滴投与による静脈炎については、その使用がICUや手術室、救急救命室で多いことから、発生頻度や危険因子は明らかでなく、その原因に基づく具体的な予防法も提案されていない。さらに、ICUでは急速に降圧を行う必要性が高いことから原液投与がほとんどで、5～10倍希釈での投与を原則としている添付文書上の静脈炎の発生頻度はあまり参考にならない。

そこで、本研究ではICUにおける高血圧性緊急症患者に対するニカルジピン注射液点滴投与による静脈炎の発症頻度と危険因子に関する前向き観察研究を実施した。

方法

1. 対象患者

平成21年4月1日から9月30日の間に、福岡徳洲会病院ICUにおいて、高血圧性緊急症のためにニカルジピン注射液の点滴投与が施行された全患者を対象とした。なお、使用された製剤は、全てラジストミン注射液10mg（1管10mL中10mg）（大洋薬品工業株式会社）である。

2. 倫理的事項

本研究は、福岡徳洲会病院倫理委員会で審査され承認を得てから実施した。

3. 静脈炎の観察・評価方法

静脈炎の定義は「点滴が正確に血管内に投与されている状態で、発赤、熱感、疼痛が観察されたもの」とし、ニカルジピン注射液の点滴投与後、静脈炎の有無とその程度を、次に示す輸液看護師協会の静脈炎スケールを用いて、担当看護師または ICU 専任薬剤師が評価した。

＜静脈炎のスケール＞

- 0 = 臨床的徴候は認められない
- 1 = 刺入部に、発赤（疼痛の有無は問わない）あり
- 2 = 刺入部に「発赤及び/もしくは腫脹」を伴う疼痛あり
- 3 = 刺入部に「発赤及び/もしくは腫脹」を伴う疼痛あり、赤い索条、索条硬結が触知可能
- 4 = 刺入部に「発赤及び/もしくは腫脹」を伴う疼痛あり、赤い索条、長さ 1 インチ (=2.54cm) 以上の索条硬結が触知可能
排膿あり

4. 調査項目

背景情報として、患者の年齢、性別、体重、原疾患、アルブミン値、ニカルジピン注射剤の投与部位、投与期間、投与速度及び側注の有無を調査した。また、全症例について総入院日数及び ICU 滞在日数を調査した。

5. 群間比較の統計解析方法

2 群間の比率の比較には χ^2 検定を、2 群間の平均値の比較には Student's t-test を用いた。いずれも危険率が 5%未満の場合を有意と判定した。

6. 危険因子の解析方法

患者背景因子として、年齢（0：65 歳未満，1：65 歳以上）、性別（0：男性，1：女性）、アルブミン値（0：3.5 mg/dL 以上，1：3.5 mg/dL 未満）を、薬剤投与関連因子として、投与期間（0：24 時間未満，1：24 時間以上）、投与速度（0：5 mg/hr 未満，1：5 mg/hr 以上）、側注の有無（0：無，1：有）を説明変数として 2 値データを作成した。まず、各説明変数について単変量ロジスティック回帰分析を行い、静脈炎発症のオッズ比（OR）及び 95%信頼区間（95%CI）を算出した。次に、単変量ロジスティック回帰分析において $p < 0.20$ となった説明

変数のみを選択し、ステップワイズ変数増加法による多変量ロジスティック回帰分析を行い、静脈炎発症のオッズ比（OR）及び 95%信頼区間（95%CI）を算出した。

結果

1. 患者背景

ニカルジピン注射液の点滴投与を受けた患者は 38 名（男性：25 名，女性 13 名，平均年齢 66.5 歳，平均体重 59.6kg）であった。性別では男性（65.7%）が女性（34.2%）に比べて多く，原疾患として最も多かったものは脳出血（26.3%），続いて，急性大動脈解離（18.4%），くも膜下出血（13.1%）であった（Table 1）。

2. 静脈炎の発症頻度

静脈炎発症患者数は 18 名（47.3%）で，静脈炎発生率（静脈炎発生件数／末梢静脈カテーテル総数）は 89 カテーテル中 43 カテーテル（48.3%）であった。静脈炎のスケールは 2 が 18 名（20%）と最も多く，注入部位はほとんどが上肢（89.9%）で，の中でも前腕（70.0%）の頻度が高かった（Table 2）。

3. 静脈炎の発症群と未発症群の背景の比較（患者別）

静脈炎の発症群と未発症群との間で，年齢，性別，体重及び合併症に有意な差は認められなかった（Table 3）。

4. 静脈炎の発症群と未発症群の背景の比較（カテーテル別）

静脈炎の発症群と未発症群との間で，投与部位及び投与速度に有意な差は認められなかった。投与期間の中央値は静脈炎発生群で 28.0 時間，未発症群で 20.0 時間であり，静脈炎発症群では投与期間が長い傾向が認められた（Table 4）。

5. 静脈炎発症の臨床的アウトカムへの影響

総入院日数の中央値は静脈炎発生群で 42.0 日，未発症群で 30.0 日であり，静脈炎の発症によって総入院日数が延長する傾向が認められた（Table 5）。

6. 単変量ロジスティック解析による危険因子の解析結果

単変量ロジスティック解析の結果，「アルブミン値 < 3.5 mg/dL」，「投与期間 ≥ 24 時間」及び「側注（有）」が，統計学的に有意な因子として検出された（Table 6）。

7. 多変量ロジスティック解析による危険因子の解析

多変量ロジスティック解析の結果、「投与期間 ≥ 24 時間」及び「側注（有）」が統計学的に有意な因子として検出された。「投与期間 < 24 時間」に対する「投与期間 ≥ 24 時間」における静脈炎発症のオッズは、2.772（95%信頼区間の上限値-下限値：1.135-6.770）であった。一方、「側注（無）」に対する「側注（有）」における静脈炎発症のオッズは、0.172（95%信頼区間の上限値-下限値：0.034-0.863）であった（Table 6）。

考察

ニカルジピン注射液の点滴投与による静脈炎は添付文書上では頻度不明とされているが、ICUにおける降圧目的での点滴投与時には高頻度（48.3%）で発症していることが明らかとなった。また、静脈炎の発症は総入院日数に影響する可能性が示唆され、患者の心理的・身体的・経済的負担を考慮すると、その予防・回避対策を早急に構築する必要があると考える。

静脈炎の危険因子についてロジスティック解析を行った結果、投与期間が24時間以上になると24時間未満に比べて、静脈炎の発症リスクは約2.8倍高くなることが推定された。ニカルジピン注射液の米国添付文書 8)の「注意と警告」欄には、「末梢静脈の刺激の危険を最小化するために、12時間毎に注入部位を替えること」と記載されているが、日本の添付文書にはそのような記載はなく、静脈炎発症に対する具体的な予防対策法は提示されていない。一方、ICUにおける看護師の業務は超多忙であることから、12時間毎の頻回にわたる注入部位の変更は実施困難な場合が多いことが予測される。

以上の点を踏まえると、我々は「ニカルジピン注射液点滴投与による静脈炎の発症リスクの低減対策法として、少なくとも24時間毎に投与部位を替えること」を提案する。ICUの臨床現場において24時間毎の投与部位の変更であれば実行可能性が高く、本対策法は静脈炎発症の低減化による患者のQOL向上や予後改善に貢献できるものと考ええる。

引用文献

- 1) 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会編集 日本高血圧学会発行 “高血圧治療ガイドライン2009”, ライフサイエンス出版, 東京, 2009, pp.90-94. <http://www.jpnsh.org/data/jsh2009/jsh2009all.pdf>
- 2) Vaughan CJ, Delanty N. Hypertensive emergencies. Lancet. 2000, 356, 411-417.
- 3) Varon J. Treatment of acute severe hypertension: current and newer agents. Drugs. 2008, 68, 283-297.
- 4) Rhoney D, Peacock WF. Intravenous therapy for hypertensive

emergencies, part 1. Am J Health Syst Pharm. 2009, 66, 1343-1352.

5) Rhoney D, Peacock WF. Intravenous therapy for hypertensive emergencies, part 2. Am J Health Syst Pharm. 2009, 66, 1448-1457.

6) Wallin JD. Intravenous nicardipine hydrochloride: treatment of patients with severe hypertension. Am Heart J. 1990, 119, 434-437.

7) Wallin JD, Cook ME, Blanski L, Bienvenu GS, Clifton GG, Langford H, Turlapaty P, Laddu A. Intravenous nicardipine for the treatment of severe hypertension. Am J Med. 1988, 85, 331-338.

8)

http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/022276s003lbl.pdf

Table 1. Characteristics of this study population

Characteristic	n (%)
All patients	38
Age (years) mean±S.D.	66.5±15.0
< 65	27 (71.1)
≥ 65	11 (28.9)
Sex	
Female	13 (34.2)
Male	25 (65.7)
Weight (kg) mean±S.D.	59.6±13.1
Disease	
Cerebral hemorrhage	10 (26.3)
Acute aortic dissection	7 (18.4)
Subarachnoid hemorrhage	5 (13.1)
Cerebral infarction	4 (10.5)
Abdominal aortic aneurysm	3 (7.8)
Acute subdural hemorrhage	1 (2.6)
Aortic insufficiency	1 (2.6)
Aortic stenosis	1 (2.6)
Hemorrhagic gastric ulcer	1 (2.6)
Infective endocarditis	1 (2.6)
Intracranial hemorrhage	1 (2.6)
Pulmonary artery fistula	1 (2.6)
Thoracic aortic aneurysm	1 (2.6)
Unruptured cerebral aneurysm	1 (2.6)

Values are numbers (percentages) unless otherwise stated

Table 2. Incidence of nicardipine infusion-related phlebitis

Characteristic	n (%)
Incidence (by patient)	18 (47.4)
The total number of catheters	89
Number of catheters per patient	
median (min-max)	4 (1-9)
Incidence (by catheter)	43 (48.3)
Scale of phlebitis	
0	46 (51.7)
1	12 (13.4)
2	18 (20.2)
3	12 (13.4)
4	1 (1.1)
Infusion site	
Upper	80 (89.9)
Dorsal hand	10 (11.2)
Brachium	8 (8.9)
Forearm	62 (69.7)
Lower	9 (10.1)

Values are numbers (percentages) unless otherwise stated

Table 3. Characteristics of patients with and without phlebitis

Characteristic		Patients with phlebitis (n = 18)	Patients without phlebitis (n = 20)	<i>P</i> value
Age (years)	mean \pm S.D.	70.2 \pm 14.8	66.4 \pm 12.2	0.4
Sex (Male)		11(61.1)	14 (70.0)	0.56
Weight (kg)	mean \pm S.D.	56.7 \pm 11.9	59.5 \pm 11.6	0.48
Complication				
	Diabetes mellitus	0 (0)	4 (20.0)	0.05
	Rheumatoid Arthritis	0 (0)	1 (5.0)	0.37

Values are numbers (percentages) unless otherwise stated

Table 4. Characteristics of catheters with and without phlebitis

Characteristic	Catheters with phlebitis (n = 43)	Catheters without phlebitis (n = 46)	<i>P</i> value
Injection site			
Lower	2 (4.7)	7 (15.2)	0.10
Upper	41 (89.1)	39 (84.8)	
Dorsal hand	2 (4.6)	7 (15.2)	
Brachium	5 (11.6)	3 (6.5)	
Forearm	34 (73.9)	29 (63.0)	
Dose rate (mg/h)			
median (min-max)	5.0 (1.0-17.0)	5.0 (1.0-20.0)	0.58
Dose periods (h)			
median (min-max)	28.0 (4.0-44.0)	20.0 (4.0-52.0)	0.07

Values are numbers (percentages) unless otherwise stated

Table 5. Clinical outcome of patients with and without phlebitis

Clinical outcome	Patients with phlebitis (n = 18)	Patients without phlebitis (n =20)	<i>P</i> value
Lengths of stay in hospital (day)			
median (min-max)	42.0 (5.0-129.0)	30.0 (9.0-116.0)	0.07
Lengths of stay in ICU (day)			
median (min-max)	5.0 (2.0-18.0)	4.5 (2.0-43.0)	0.84
Values are numbers (percentages) unless otherwise stated			

Table 6. Univariate and multivariate logistic analysis of risk factors for nicardipine infusion-related phlebitis

Risk factor	OR	95% CI	<i>P</i> value
Univariate logistic analysis			
age \geq 65 years	0.454	0.174 - 1.187	0.107
sex (female)	0.674	0.280 - 1.625	0.380
albumin $<$ 3.5 mg/dL	0.282	0.083 - 0.958	0.043
dosing period \geq 24 hours	2.625	1.115 - 6.179	0.027
dosing rate \geq 5 mg/hr	1.068	0.461 - 2.477	0.877
side tube (presence)	0.176	0.036 - 0.855	0.031
Multivariate logistic analysis			
dosing period \geq 24 hours	2.772	1.135 - 6.770	0.025
side tube (presence)	0.172	0.034 - 0.863	0.032

Values are express as odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (95% CI)

第3章 造影剤誘発の肺障害に対するカルバゾクロムスルホン酸ナトリウム (AC-17) の改善作用

第 1 節 ラットを用いた造影剤誘発の肺障害モデルに対するカルバゾクロムスルホン酸ナトリウム (AC-17) の作用

ヨード造影剤の静脈内投与後の肺機能障害は、臨床的には非常にまれではあるが、きわめて重篤で致命的な副作用である (Lalli, 1980)。この発現機序として肥満細胞の脱顆粒による種々の炎症性化学メディエーターの遊離 (Laroche et al., 1998)、およびこれに引き続く、各種メディエーターの血管内皮細胞への作用が考えられている。ヨード造影剤の血管内投与に関連する幾つかの急性の副作用を予防する目的で、さまざまな薬剤の投与方法が総説されているが (Bush and Swanson, 1991)、呼吸不全や肺浮腫、気管支痙攣のような重篤な肺症状に対する効果的な予防法、治療法というものは未だに存在しない。

カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム (AC-17) は毛細血管強化剤として、毛細血管抵抗性の減弱によると考えられる出血に対する止血効果を期待して臨床的に幅広く用いられている。AC-17 の詳細な作用メカニズムは不明だが、血管内皮での種々な反応に関与し、血管壁の正常化 (透過性亢進の抑制、血管脆弱の修復など) に大いに関係するものと推定されている。よって、AC-17 はヨード造影剤の血管内投与によって引き起こされる肺機能障害に対して抑制効果を示す可能性があると考えた。

そこで、本章ではまず、ラットを用いてヨード造影剤によって引き起こされる肺機能障害に対する AC-17 の効果を検討した。そのために、イオン性ヨード造影剤であるイオキサグル酸の静脈内投与によって引き起こされる肺血管透過性亢進ならびに動脈酸素分圧の低下に対する AC-17 の効果を検討した。さらに、AC-17 の作用点を明確にするために、イオキサグル酸暴露により誘発されるラット肺由来肥満細胞脱顆粒に与える影響を検討した。

1. 方法

1-1. 実験動物

体重 180-230g の SD 系雄性ラット (九動株式会社) を用いた。ラットは恒温・恒湿及び明暗 12 時間周期 (明期 AM8:00-PM8:00) の条件下で飼育した。固形飼料及び水は自由に摂取できるようにした。

1-2. 試薬

造影剤はダイマー型イオン性造影剤であるイオキサグル酸（ヘキサブリックス 320®、320 mgI/mL、Mallinckrodt, St. Louis, MO, USA）を用いた。タンパク透過性の指標として色素 Evans blue（Sigma Chemical, St. Louis）を用いた。カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム（AC-17）は市販の注射剤（アドナ注®, 田辺製薬、大阪）を用いた。

1-3. ラット肺血管透過性の検討

肺血管透過性の検討は Sendo ら（2000）の方法に準じて Evans blue (EB) の肺組織移行性を指標として検討した。通常、静脈内に投与された EB は速やかに血漿蛋白と結合し組織への移行はほとんどないため、肺組織における Evans blue の定量は血漿蛋白の血管外漏出の指標として利用が可能である。（Rogers et al., 1989 ; Dumont, 1990）。

ペントバルビタール麻酔下（50 mg/kg i. p.）にて、ラットにイオキサグル酸（ヨード量として 4 g/kg）または生理食塩液を EB（20 mg/kg）とともに大腿静脈より投与した。イオキサグル酸および EB の総投与量は、20 mL/kg に調整し、シリンジポンプ（テルモシリンジポンプ、STC-521, テルモ、東京）を用いて一定速度（1.5 mL/min）にて注入した。投与量は投与時間で調整した。

イオキサグル酸または生理食塩液投与 10 分後に開胸した後、速やかに肺を摘出した。これは、当研究室の研究において、イオキサグル酸によって誘発される肺組織での EB の血管外への漏出および水分含量の増加は、イオキサグル酸投与 10 分後が最大であるという結果にもとづく（Sendo et al., 1999）。摘出した肺は、肺動脈より生理食塩液を灌流し、血管内の EB を除去した。肺組織は 2 等分し、それぞれの重量を測定後、一方はホルムアミド（4 mL/g wet tissue weight）中で 40°C、24 時間振盪し、血管外へ漏出した EB を抽出した。もう一方は、60°C で 24 時間乾燥させた後、乾燥重量を測定した。抽出した EB は 96-well マイクロプレート（Corning, New York, USA）に分注し、620 nm における吸光度をマイクロプレートリーダー（Immuno-mini, NJ-2300, Intermedical, 東京）を用いて測定した。EB 量は EB 標準液（0.5, 2.5, 5, 10, 20, 40 · g/mL）により算出し、肺組織に漏出した EB の単位乾燥重量当たりの量として表した。AC-17 および EB は投与直前に生理食塩水にて希釈した。

1-4. 血液ガス分圧の測定

ペントバルビタール麻酔下、ラットに血液のサンプリングのため大腿動脈よりカニューレ（Angiocath, 24G, Deseret Medical Inc., UT, USA）を挿入した。イオキサグル酸（4 gI/kg, i. v.）投与 5, 10, 20, 40 及び 60 分後に 100 µL の血液検体を採取し、動脈血中の酸素分圧（PaO₂）、二酸化炭素分圧（PaCO₂）およ

び pH を自動ガス分析器 (i-STAT Co., East Windsor, NJ, USA) にて測定した。動脈血中の酸素分圧 (PaO₂) が 70mmHg を下回った場合、呼吸器の機能不全 (低酸素血症) が発現したとした。AC-17 (10 mg/kg, i. v.) はイオキサグル酸投与 60 分前に前投与した。

1-5. ラット肺由来肥満細胞におけるヒスタミン遊離の測定

ラット肺由来肥満細胞は Ali と Pearce (1985) の方法に従い単離した。すなわち、ラットを腹部大動脈より脱血屠殺した後、これより分離した肺組織を、0.1% Bovine serum albumine (BSA) (Sigma) を含む氷中冷却した Krebs-Ringer buffer (KRB : 118.0 mM NaCl, 4.7 mM, KCl, 1.2 mM MgSO₄, 1.0 mM NaH₂PO₄, 25 mM NaHCO₃, 1.3 mM CaCl₂ and 11 mM D-glucose, pH7.4) に浸し、はさみで細かく刻んだ後ガーゼ上で洗浄した。これを 0.05% collagenase (type-1, Sigma) を含む KRB に懸濁し、若干の振とうを加えながら 37°C で 90 分間インキュベートした。この懸濁液を 70 · m-Cell Strainer (Becton Dickinson Labware, NJ, USA) にてろ過後、ろ液を 25°C、100 · g にて 8 分間遠心分離した。上清を除去した後、残渣を 0.1% BSA 含有 KRB 10 mL にて懸濁し再び上記条件にて遠心分離した。これを 4 回繰り返す、細胞懸濁液を洗浄した。懸濁液中の肥満細胞数は 0-トルイジンブルーにて染色した後計測し、0.1% BSA 含有 KRB を用いて希釈し 1.5 · 10⁶ cells/mL に調整した。

細胞懸濁液 (0.5 ml) に 0.1% BSA 含有 KRB にて希釈したイオキサグル酸 0.5 ml (100 mg iodide/ml; (mgI/ml)) を加え、AC-17 非存在下または存在下で、37°C にて 10 分間反応させた。氷中に静置し反応を停止させた後、4°C、800 · g にて 5 分間遠心し上清は別チューブに移し、過塩素酸 (最終濃度 0.4 N) を加えた。残渣は過塩素酸 (最終濃度 0.4 N) にてホモジナイズした。上清、残渣ともに 4°C、20000 rpm にて 5 分間遠心し、その上清中のヒスタミン濃度を測定した。ヒスタミンは Itoh ら (1992) の方法に従い、高速液体クロマトグラフィー-ポストカラム蛍光誘導体化法により測定し、全ヒスタミン量に対する上清ヒスタミン量を遊離率 (%) として算出した。

1-6. 統計解析

データは平均値±標準誤差で表した。2 群間の比較には Student の t-test を用いた。多群間の比較には、one-way analysis of variance で解析後、Bonferroni/Dunnnett' s test を用いた (StatView; Abacus Concepts, CA, USA)。検定は 5% 以下 (p<0.05) の危険率をもって有意とした。

2. 結果

2-1. イオキサグル酸誘発肺血管透過性亢進に対する AC-17 の効果

イオキサグル酸 4 gI/kg 投与群において、生理食塩水投与群に比して約 5 倍の EB の肺組織への漏出がみられた (Figure 1)。AC-17 をイオキサグル酸投与 60 分、もしくは 120 分前に処置することによりイオキサグル酸誘発の肺血管透過性亢進を有意に抑制した (Figure 1)。それゆえに、以後の動物を用いた実験、つまり、AC-17 の抑制効果と用量依存性の関係、イオキサグル酸誘発の肺機能変化における AC-17 の効果を検討した実験において AC-17 はイオキサグル酸投与の 60 分前に投与することとした。

Figure 2 に示すように、AC-17 は 1, 5, 10 mg/kg の用量でイオキサグル酸誘発の肺血管透過性亢進に対して用量依存的に抑制効果を示し、特に 5, 10 mg/kg の濃度では有意にこれを抑制した。AC-17 単独投与群では生理食塩水を前投与した群と同等であり EB 漏出に影響を与えなかった。

2-2. イオキサグル酸誘発の低酸素血症に対する AC-17 の効果

Figure 3 に示すとおり、イオキサグル酸 4 gI/kg 投与により、投与 5 分後に動脈血中の酸素分圧 (PaO₂) の顕著かつ一過性の低下 (<70 mmHg) がみられた。PaO₂ はイオキサグル酸投与後 5-10 分後に最大の低下を示し、約 60 分後までに緩やかな回復をみせた。AC-17 (10 mg/kg) を前投与した群においては、イオキサグル酸による PaO₂ の減少を完全に抑制した。イオキサグル酸誘発の肺機能低下に対する AC-17 の保護効果が最も顕著にあらわれたのはイオキサグル酸投与 5, 10, 20 分後であった。一方、動脈血二酸化炭素分圧 (PaCO₂) はわずかに上昇を示したが、有意なものではなかった。動脈血の pH は、イオキサグル酸投与により変動は見られなかった。

2-3. イオキサグル酸によるラット肺由来肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する AC-17 の効果

現在までに、造影剤による肺血管透過性亢進発現の機序として肥満細胞の脱顆粒による種々のケミカルメディエーターの遊離が関わっていることが示唆されている (Laroche et al., 1998 ; Goromaru et al., 2002)。AC-17 は造影剤誘発肺血管透過性亢進に対して抑制効果を示したが、その具体的な作用点を検討するために、ラット肺由来肥満細胞から遊離されるヒスタミン量を指標として、造影剤誘発肺肥満細胞の脱顆粒増強に対する AC-17 の作用を検討した。

Figure 4 に示すように、イオキサグル酸 100 mgI/mL はラット肺由来肥満細胞からのヒスタミンの遊離を有意に増強した。しかし、AC-17 (0.1-10 μ M) はこのイオキサグル酸誘発のラット肺由来肥満細胞からのヒスタミン遊離の増強に

影響を与えなかった。

3. 考察

本章では、ヨード造影剤の静脈内投与によって引き起こされるラット肺障害に対する AC-17 の作用を検討した。

本研究において初めて、毛細血管強化薬である AC-17 が、イオン性ヨード造影剤であるイオキサグル酸によって誘発される肺血管透過性亢進を抑制したことを示した (Figure 1, 2)。血管透過性亢進の指標として組織への EB の漏出を測定した。EB は静脈内に投与されるとすぐに循環しているアルブミンと結合するため、組織へのタンパク漏出の指標として最も一般的に用いられている。この技術は、毛細血管の機能障害の評価において肺肥大を測定するよりも感度が良好である (Patterson et al., 1992)。そのうえ、AC-17 が動脈血酸素分圧 (PaO₂) の低下から推測される造影剤誘発の肺機能障害を著明に回復させたことは注目に値する (Figure 3)。

今回の実験において、PaO₂ の減少はイオキサグル酸投与後 5-10 分で最大を示した (Figure 3)。当研究室において、これまでに、イオキサグル酸はタンパクの肺組織への漏出および、肺組織における水分含量の増加を引き起こし、これらはともにイオキサグル酸の静脈内投与 10 分後に最大に達するということを報告している (Sendo et al., 1999)。それゆえに、イオキサグル酸投与後に発現する肺機能障害は肺血管透過性の変化と完全に対応していると考えた。今回の実験結果は、肺血管透過性亢進に続く拡散性の肺浮腫は、PaO₂ の減少に結びつく急性呼吸不全の顕著な原因となることを示した Saldeen (1979) の研究結果と概して一致した。よって、ヨード造影剤によって誘発される肺浮腫や呼吸不全に対して、肺血管透過性亢進の抑制というものがより効果的な治療戦略として期待できる可能性がある。

本研究において、AC-17 のイオキサグル酸誘発血管透過性亢進に対する抑制効果に潜在する具体的な作用メカニズムを検討した。ともに肥満細胞顆粒中に高密度に局在しているヒスタミンやトリプターゼのヒト血漿中濃度の増加がヨード造影剤の副作用の重症度に関連をもっているとの報告がある (Laroche et al., 1998)。事実、ヨード造影剤はラット肺肥満細胞 (Amon et al., 1990) と同様に、ヒトからのヒスタミン遊離を引き起こす (Peachell et al., 1998)。当研究室において、以前に、ヨード造影剤によって引き起こされるラット肺血管透過性亢進は、肥満細胞脱顆粒剤である compound 48/80 の頻回投与にともない肥満細

胞が枯渇することにより抑制された (Goromaru et al., 2002)。以上の結果より、肥満細胞は、ヨード造影剤投与によって誘発される肺血管透過性亢進において重大な役割を担っていることが示唆される。そこで、イオキサグル酸暴露によって誘発されるラット肺由来肥満細胞脱顆粒に対する AC-17 の効果を、ヒスタミン遊離量を指標として検討した。しかしながら、AC-17 はイオキサグル酸 100 mgI/mL 暴露によって引き起こされたヒスタミン遊離に影響を与えなかった (Figure 4)。それゆえに、AC-17 のヨード造影剤誘発肺障害に対する保護効果は、ヨード造影剤によって引き起こされる肥満細胞の脱顆粒の抑制によるものとは考えにくいことが示唆された。

一方で、AC-17 は、結合組織の重大な構成要素であるヒアルロン酸の分解を阻止することで細胞接合部の維持において大きな役割を果たしていると報告されている (Kiyonaga, 1960)。さらに、AC-17 はカリクレイン誘発 (Kodera et al., 1966) およびヒスタミン誘発 (Shimizu et al., 1965) の血管透過性亢進を抑制した。それゆえに、AC-17 は血管内皮細胞の barrier 機能を維持することにより血漿タンパクの漏出を抑制しているのではないかと考えられる。

AC-17 の血管内皮細胞の barrier 機能に対する AC-17 の保護効果およびその詳細なメカニズムはまだ明らかではないが、AC-17 は、種々の炎症性化学メディエーターの作用をブロックすることでヨード造影剤誘発肺障害を抑制すると考えられる。

結論として、AC-17 は、ヨード造影剤の血管内投与によって誘発される重篤な肺障害を抑制する有力な薬剤であることが判明した。この AC-17 による保護効果の詳細な作用メカニズムとして、血管内皮細胞の barrier 機能に対する安定化が示唆される。それゆえに、AC-17 は血管造影施行時のヨード造影剤誘発の肺に関連する副作用の予防に大きな有効性を発揮すると考えられる。

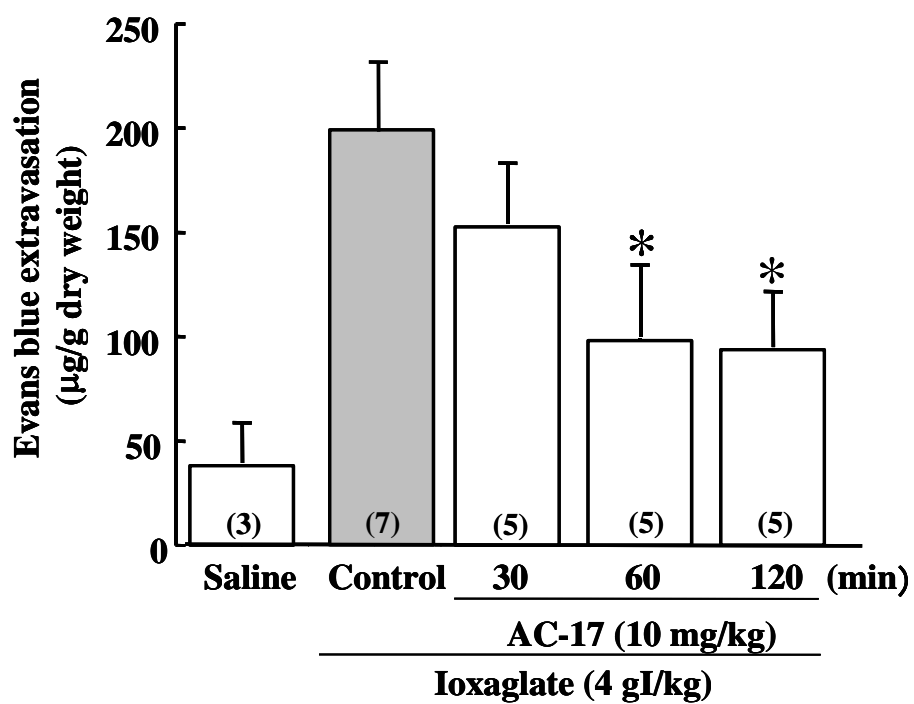


Figure 1 Effect of pretreatment with AC-17 on ioxaglate-increased vascular permeability in rats. AC-17 (10 mg/kg, i.v.) was injected 30, 60 or 120 min prior to ioxaglate (4 gI/kg). Control rats were injected with saline 60 min before ioxaglate treatment. The vascular permeability was evaluated by Evans blue extravasation in lung, and determined at 10 min after intravenous injection (1.5 ml/min) of ioxaglate in combination with Evans blue (20 mg/kg). The injection volume of ioxaglate or saline was 20 ml/kg. Each column and vertical bar indicates the mean \pm S.E.M. The number of rats is shown in each parenthesis at the top of each column. *P < 0.05 versus Control.

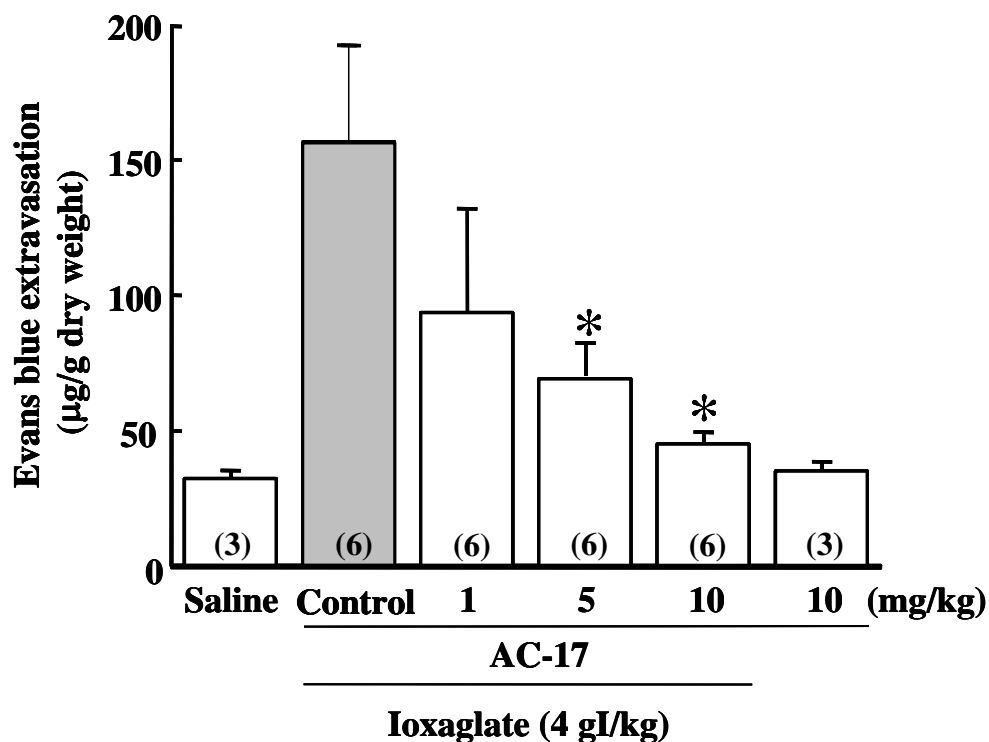


Figure 2 Dose-response study for the inhibitory effect of AC-17 on ioxaglate-increased vascular permeability in rats. AC-17 (1-10 mg/kg, i.v.) was injected 60 min prior to ioxaglate (4 gI/kg, i.v.) treatment. Control rats were treated with saline 60 min prior to ioxaglate injection. Evans blue extravasation in lung tissues was determined at 10 min following combined treatment with ioxaglate and Evans blue (20 mg/kg). The injection volume of ioxaglate and saline was 20 ml/kg. Each column and vertical bar indicates the mean \pm S.E.M. The number of rats is shown in each parenthesis at the top of each column. *P < 0.05 versus Control.

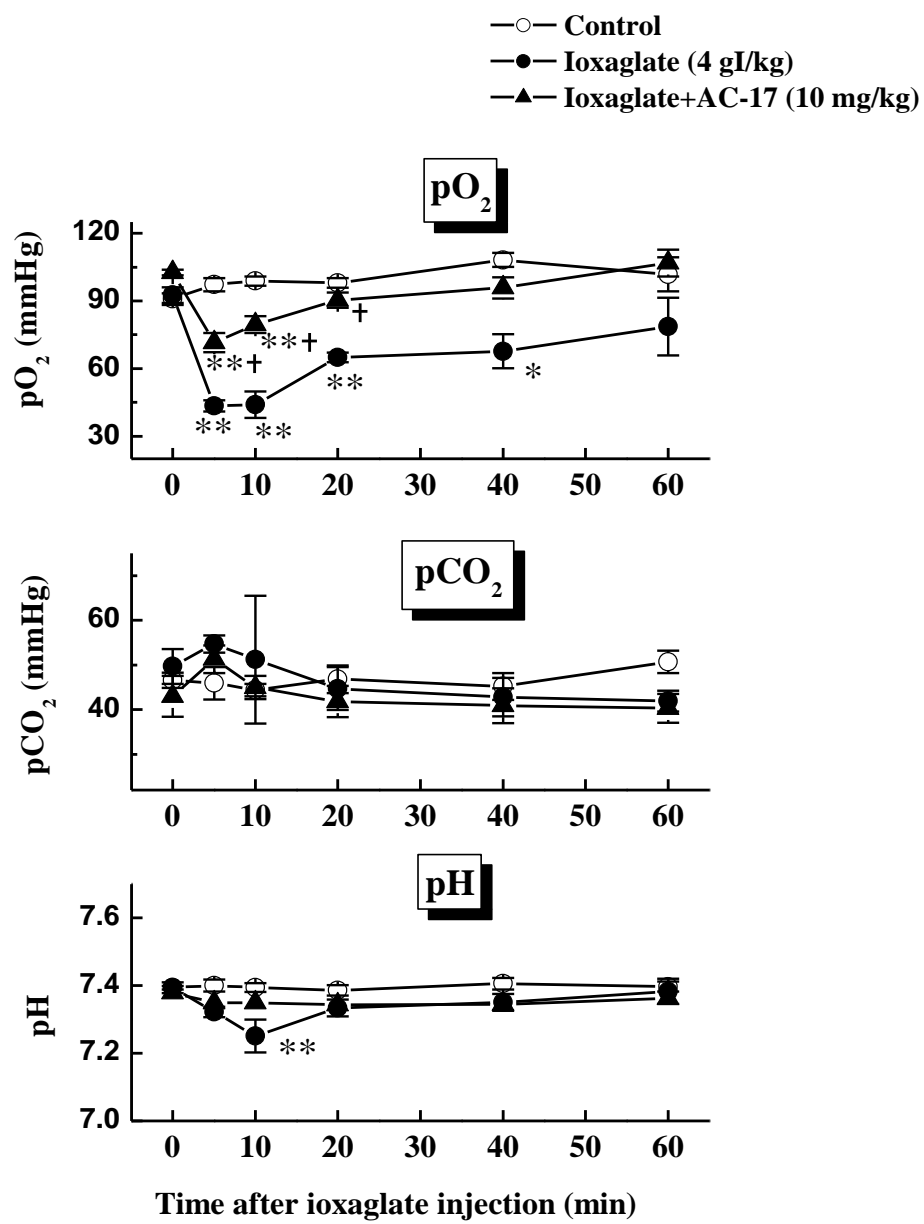


Figure 3 Effect of AC-17 on changes in the partial pressure of blood gasses (PaO₂ and PaCO₂) and pH after intravenous injection of ioxaglate. AC-17 (10 mg/kg, i.v.) or saline was injected 60 min prior to injection of ioxaglate (4 gI/kg). Control rats were injected with saline instead of ioxaglate. Aliquots (100 µl) of blood specimens were taken immediately before, and 5, 10, 20, 40 and 60 min after ioxaglate injection, and PaO₂, PaCO₂ and pH were immediately analyzed by an automatic gas analyzer (i-STAT). The injection volume of ioxaglate or saline was 20 ml/kg. Each point and vertical bar indicates the mean ± S.E.M. of 6 animals. *P < 0.05, **P < 0.01 versus Control; †P < 0.05 versus Ioxaglate + Saline.

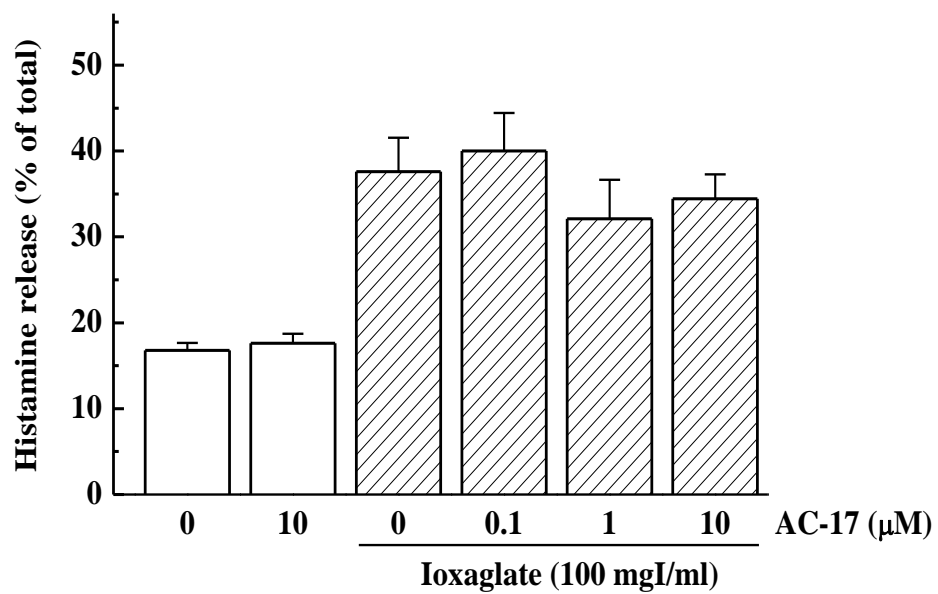


Figure 4 Effect of AC-17 on histamine release from rat pulmonary mast cells. Rat pulmonary mast cells were incubated at 37 °C for 10 min with 100 mgI/ml ioxaglate or saline in the absence or presence of AC-17. Each column and vertical bar indicates the mean \pm S.E.M. of 4 experiments.

第 1 節において、毛細血管強化薬として止血を目的に臨床で用いられているカルバゾクロムスルホン酸ナトリウム (AC-17) は、ヨード造影剤誘発の肺障害を著明に抑制することが見出され、血管造影施行にともなう重篤な肺に関連する副作用の予防薬となりうることが示された。さらに、この AC-17 の保護効果の詳細なメカニズムとして、血管内皮細胞の barrier 機能の安定化が示唆された。当研究室のこれまでの実験により、ヨード造影剤誘発の肺障害には肥満細胞からのトリプターゼの遊離が大きく関わることを示されている (Sendo et al., 2003)。このトリプターゼの作用の一部は G タンパク結合受容体である proteinase-activated receptor-2 (PAR-2) の活性化が関与することが知られている (Corvea et al., 1997; Molino et al., 1997)。PAR-2 は血管内皮細胞に豊富に存在し、PAR-2 アゴニスト刺激によって血管透過性が亢進するという報告がなされている (Kawabata et al., 1998)。

そこで、本章では AC-17 の血管内皮細胞に対する直接的な保護作用を検討するために培養ブタ大動脈血管内皮細胞 (PAECs) を用い、造影剤誘発の肺障害の主要な担い手トリプターゼ (Sendou et al., 2003-a) による血管内皮細胞透過性亢進に対する AC-17 の効果を検討した。さらに、AC-17 の詳細な内皮細胞における作用メカニズムを解明するために、内皮細胞透過性およびイノシトールリン脂質代謝回転等を指標として検討した。

1. 方法

1-1. 試薬

タンパク透過性の指標として色素 Evans blue (Sigma Chemical, St. Louis) を用いた。カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム (AC-17)、ヒト肺由来トリプターゼ (5.2 units/mg protein)、ウシ血漿由来トロンビン (和光純薬 (大阪) より購入した)、1,2-bis-(*o*-aminophenoxy) ethane-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid tetra (acetoxymethyl) ester (BAPTA/AM) は Sigma Chemical (St. Louis) から購入した。Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)、イオノマイシン、A-23187、calphostin C および Y-27632 (Calbiochem-Novabiochem Corp., San Diego, CA, USA) を用いた。免疫染色には FITC (fluorescein isothiocyanate) 標識抗 VE-cadherin 抗体 (Alexis Biochemicals, San Diego, CA, USA)、rhodamine 結合 phalloidin (Molecular Probes, Eugene, OR, USA) を用いた。

1-2. 細胞培養

ブタ大動脈血管内皮細胞 (Porcine aortic endothelial cells ; PAECs) を培養フラスコにて継代培養し細胞実験に用いた。

ブタ大動脈は、屠殺場にて入手した。血管を phosphate-buffered saline (PBS) にて洗浄した後、縦方向に切り開き、滅菌済み剃刀を用いて、内皮細胞層のみを軽く剥ぎ取った。採取した内皮細胞は、37°C、5% CO₂/95%大気下、10% fetal bovine serum (FBS)、100 µg/mL streptomycin、100 units/mL penicillin および 250 mg/mL amphotericin B (GIBCO BRL, Life Technologies, Grand Island, NY) を含む Dulbecco' s modified Eagle' s medium (DMEM) (Sigma Chemical, St. Louis) にて培養し (Oike and Ito, 1997)、2 代目から 4 代目までを実験に用いた。また、増殖した細胞を保存する場合は、細胞を 10%DMSO 含有 DMEM 中に収集し、バイセルを用いて -80°C まで徐々に冷却させた後、液体窒素中で凍結保存した。

1-3. PAECs におけるタンパク透過性の検討

内皮細胞のバリア機能は、Furuta ら (2002) の方法に準じて BSA 結合 Evans blue (EB) の内皮細胞透過性を指標とし、Transwell インサート (12-well type, Corning Costar) を用いて検討した。

PAECs (4.0×10⁴ cells/cm²) はフィブロンectin-コラーゲンコーティングしたポリカーボネート膜 (1.1 cm², 3.0 µm pore size) 上に播種した。BSA 結合 EB は BSA および EB を混合し、KRB にて希釈し、作成した (最終濃度 EB 0.67 mg/mL, BSA 4%)。播種 4 日後の PAECs から DMEM を取り除いて、KRB で 3 度洗浄した。その後、インサート下部の well には 1.5 mL の KRB を、インサート上部には刺激薬含有 BSA 結合 EB (0.5 mL) 溶液を加えた後、10、20 および 30 分後に下部 well からサンプル (300 µL) を採取し、新たに KRB を同量加えた。AC-17 は刺激薬添加 30 分前に PAECs に加え、さらに作用薬含有 BSA 結合 EB 溶液にも加えた。サンプルは 96-well マイクロプレート (Corning) に分注し、620 nm における吸光度をマイクロプレートリーダー (Immuno-min) を用いて測定した。検量線より BSA 結合 EB 濃度を算出し、インサート内側に加えた BSA 結合 EB の初濃度 [C]_i (0.67 µg/µL) 及びインサート外側に移行した BSA 結合 EB の濃度 [C]₀ (µg/µL) を用いて以下の式に従って透過クリアランス (各サンプリング間隔 10 分当りに上部から下部へ通過した液量) を算出し、各サンプリングタイムに対して透過クリアランスをプロットすることで一次回帰分析を用いてその傾き (1 分当りに上部から下部へ通過した平均液量 ; µL/min) を算出した (Dehouck et al., 1992)。

$$\text{Clearance } (\mu\text{L}) = [C]_0 \times V_0 / [C]_i$$

(V₀ : インサート下部 well の容積 (1500 µL))

1-4. PAECs におけるトリチウム標識フォスファチジルイノシトール ([3H]PI) の加水分解測定

フォスファチジルイノシトールの加水分解の測定は Oka ら (1997) の方法に準じて、トリチウム標識ミオイノシトール ([3H]myo-inositol) からトリチウム標識イノシトール 3 リン酸 ([3H]IP3) の形成を指標として検討した。

PAECs は 24 ウェルプレートに播種後コンフルエントまで培養し、透析した 10%FBS を含むイノシトールフリーの DMEM 中で 15 時間、[3H]ミオイノシトール (1 μ Ci/mL) を取り込ませた。細胞は、HEPES-buffered saline (140 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.2 mM CaCl₂, 1.2 mM MgCl₂, 1.2 mM KH₂PO₄, 11 mM glucose, 15 mM HEPES, pH 7.4) で 2 度洗浄し、その後 AC-17 存在下で 30 分間プレインキュベーションした。LiCl (10mM) を刺激 10 分前に加え、ブラジキニンもしくはトロンビンを加えて反応を開始した。37°C、30 秒インキュベーションした後、5% (w/v) トリクロロ酢酸を加えて反応をとめた。Berridge ら (1983) の方法に準じて、陰イオン交換カラムを用いて、産生されたトリチウム標識イノシトールリン酸類 ([3H]IPs) から [3H]IP3 を分離した。

1-5. Actin stress fiber の染色

PAECs をコラーゲンコーティングした glass coverslip (ASAHI THECHNO GLASS, 東京) 上に播種し、コンフルエントに達した後、実験に用いた。PAECs にトリプターゼもしくは PMA を 10 分処置し、30 分後 PBS を用いて 2 回洗浄し、PBS-4% paraformaldehyde で 25°C にて 15 分間固定した。PBS で 3 回洗浄後、PBS-0.1% TritonX-100 を 25°C、5 分間加え細胞膜を穿孔した。さらに PBS で洗浄後、blocking-buffer (PBS-5% FBS, 0.2%BSA, 0.1% Triton-X 100) を 25°C、60 分間処置することで非特異結合をブロッキングした。その後 blocking-buffer にて 40 倍に希釈した rhodamin 結合 phalloidin を標本に加え、25°C にて 60 分間染色した。標本の coverslip は PBS/glycerol (1:1) 混合液にてマウントし、蛍光顕微鏡 (BX51, Olympus, 東京) にて観察した。

1-6. VE-cadherin 免疫染色

VE-cadherin 免疫染色は actin stress fiber の染色と同様に行った。すなわち、PAECs を固定、穿孔、ブロッキングした後、blocking-buffer にて 5 倍に希釈した FITC 標識抗 VE-cadherin 抗体を加え、25°C にて 60 分間染色した。Coverslip をマウントした後、蛍光顕微鏡 (BX51, Olympus) にて観察した。

1-7. 統計解析

データは平均値±標準誤差で表した。2 群間の比較には Student の t-test を用いた。多群間の比較には、one-way analysis of variance で解析後、Bonferroni/Dunnett' s test を用いた (StatView; Abacus Concepts, CA, USA)。検定は 5%以下 ($p < 0.05$) の危険率をもって有意とした。

2. 結果

2-1. PAECs におけるトリプターゼ、トロンビン、ブラジキニン誘発タンパク透過性亢進に対する AC-17 の効果

トリプターゼは PAECs において、アルブミン結合 EB の内皮細胞透過性を著明に亢進させ、AC-17 ($0.1-1 \mu\text{M}$) は刺激 30 分前から PAECs に前処置することにより、このトリプターゼ誘発の内皮細胞透過性亢進を著しく抑制した (Figure 5)。また、この AC-17 の作用がトリプターゼ特異的なものなのか否かを検討するために、トロンビン、ブラジキニンが血管内皮細胞に及ぼす作用に対する AC-17 の効果を検討した。トロンビンやブラジキニンといったような多くの炎症性物質は迅速かつ一過性の血管内皮細胞透過性亢進を引き起こすといわれている (Garcia et al., 1986; Schaeffer et al. 1993, Ehringer et al., 1996; von Nieu Amerongen et al., 1998)。本実験においても、トロンビンおよびブラジキニンはともに著明に内皮細胞の透過性を亢進させた。またこの作用は AC-17 により有意に抑制された (Figure 5)。

2-2. PAECs における Ca^{2+} イオノフォア誘発血管透過性亢進に対する AC-17 の効果

AC-17 の血管内皮細胞の透過性亢進抑制作用の更なる詳細なメカニズムを検討するため、トリプターゼ、トロンビン、ブラジキニンそれぞれの作用受容体刺激以降の共通する細胞内シグナリングに注目し、まず、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇による血管内皮細胞 barrier 機能の変化に対する AC-17 の効果を検討した。

Figure 6 に示すように、ともに Ca^{2+} イオノフォアであるイオノマイシン (Aagaard-Tillery et al., 1995) および A-23187 (Caron-Leslie et al., 1994) は PAECs においてタンパクの内皮細胞透過性を著しく亢進した。この透過性亢進作用は細胞内カルシウムのキレーターである BAPTA/AM (Bissonnette et al., 1994) $3 \mu\text{M}$ により抑制された (Figure 6A)。AC-17 は $10 \mu\text{M}$ の濃度においてもこれらイオノマイシンおよび A-23187 によって引き起こされる内皮細胞透過性の亢進に対して影響を与えなかった (Figure 6B, 6C)。

3-3. PAECs における PMA 誘発血管内皮細胞透過性亢進に対する AC-17 の効果

Figure 7 にプロテインキナーゼ C (PKC) 活性化による血管内皮細胞 barrier 機能の変化に対する AC-17 の効果を示した。PMA 1 μ M にてプロテインキナーゼ C を活性化することによりタンパクの血管内皮細胞透過性が亢進した (Figure 7)。この PMA の作用は、プロテインキナーゼ C 阻害剤である calphostin C (Chambers et al., 1992) 100 nM を PAECs に前処置することで改善された (Figure 7A)。そのうえ、PMA によって引き起こされる内皮細胞透過性亢進は低分子 G タンパクの Rho によって活性化されるキナーゼの 1 つである Rho キナーゼの阻害剤である Y-27632 (Uehata et al., 1997) 10 μ M によって大きく減じた。一方 AC-17 は 10 μ M の濃度においてもこの PMA の内皮細胞透過性亢進作用に全く影響を与えなかった。

3-4. PAECs におけるブラジキニン、トロンビン誘発トリチウム標識イノシトール 3 リン酸 ([³H]IP₃) の形成に対する AC-17 の作用

G タンパク結合型受容体の刺激が起こると、ホスホリパーゼ C (PLC) の活性化とそれに引き続いてフォスファチジルイノシトール (PI) 代謝回転の亢進が起こるが、この受容体刺激により誘発される PI 代謝回転に対して AC-17 が抑制を示すか否かを検討することで AC-17 の詳細な作用点の特定を目指した。ブラジキニン、トロンビンはともに PAECs 処置後 30 秒で [³H] ミオイノシトールからの [³H] IP₃ の形成を著明に増加させた。AC-17 (0.1-1 μ M) はこのブラジキニン誘発 (Figure 8A) およびトロンビン誘発 (Figure 8B) の [³H] IP₃ の形成の増強を濃度依存的に抑制した。

3-5. PAECs においてトリプターゼ暴露によって誘発される actin stress fiber および VE-cadherin の消失に対する AC-17 の作用

接着帯 (adherence junction) タンパクの再編成における AC-17 の効果を視覚的に評価するために、PAECs において rhodamin 結合 phalloidin および FITC 標識抗 VE-cadherin 抗体を用いて免疫染色解析を行った。Figure 9 に示すように、無処置の PAECs においては細胞間隙に VE-cadherin 免疫陽性物質がはっきりと染色され、細胞間が密着していることが観察された。また、actin stress fiber がわずかにみられた (Figure 9)。しかしながら、この細胞において 10 nM トリプターゼを暴露すると、VE-cadherin 様免疫活性は崩壊し、部分的に細胞間隙縁から消失した (Figure 9-2)。そのうえ、actin stress fiber の出現が著明に増加していることが観察された。VE-cadherin 様免疫活性や actin stress fiber の形成といった同様の変化が PMA の暴露によっても観察された (Figure 9-4)。AC-17 はトリプターゼによって引き起こされる VE-cadherin 様免疫活性の

消失および actin stress fiber の形成をともに抑制していることが観察された (Figure 9-3)。しかし、PMA によって引き起こされる同様の内皮細胞の変化に対して AC-17 は影響を全く与えなかった (Figure 9-5)。

3. 考察

本章では AC-17 の血管内皮細胞 barrier 機能に対する直接的な保護作用、およびその具体的な作用メカニズムを明確にするために、培養ブタ大動脈血管内細胞 (PAECs) を用いて詳細に検討した。

前章において、AC-17 は肥満細胞の脱顆粒を介した造影剤誘発の肺障害を抑制し、その作用メカニズムとして AC-17 の血管内皮細胞に対する直接的な作用が推測された。本実験にて、PAECs におけるトリプターゼ誘発の血管内皮細胞透過性亢進に対して AC-17 が保護効果を示した (Figure 5A)。さらに、AC-17 はトロンビン、ブラジキニン誘発の血管内皮細胞透過性亢進も抑制することがわかった (Figure 5B, C)。この結果より、AC-17 が血管内皮細胞に対して直接作用し、barrier 機能の保護に関与することが確信できた。さらに、この AC-17 の内皮細胞保護効果は造影剤誘発肺障害の主な原因物質のトリプターゼの作用受容体刺激に対して特異的なものではなく、トリプターゼ、トロンビン、ブラジキニンそれぞれの各受容体刺激から内皮細胞 barrier 機能障害に至るまでに存在する共通の細胞内シグナリングに対する作用であることが示唆される。

トリプターゼのいくつかの薬理学的な作用は PAR-2 の活性化を介していることが示されている (Nystedt et al., 1994; Böhm et al., 1996)。最近の当研究室の研究において、培養ウシ大動脈血管内皮細胞 (BAECs) においてトリプターゼおよび PAR-2 アゴニストペプチドは細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を上昇させ、内皮細胞透過性を亢進を引き起こすことがわかった。さらに、トリプターゼ誘発の内皮細胞 barrier 機能障害はホスホリパーゼ C (PLC) 阻害剤である U-73122 によって完全に抑制されること、IP3 受容体アンタゴニストの xestospongine C または PKC 阻害剤である calphostin C により部分的に改善されることが示され、それゆえにホスホリパーゼ C の活性化に引き続く細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の上昇およびプロテインキナーゼ C の活性化がトリプターゼ誘発の血管内皮細胞透過性亢進の機序として考えられている (Sendo et al., 2003)。一方、トロンビンは proteinase-activated receptor-1 (PAR-1) を活性化しその結果様々な血管内皮細胞においてタンパク透過性を増強する (Lynch et al., 1990; Garcia, 1992; Ehringer et al., 1996)。Sandval ら (2001) は $[Ca^{2+}]_i$ の上昇および calphostin C 感受性のプロテインキナーゼ C の活性化がトロンビン誘発の内皮細胞の透過性亢進に関与していることを示している。

ブラジキニンもまた血管透過性の亢進を引き起こす炎症性のメディエーターである。ブラジキニンの作用受容体として、ともにフォスファチジルイノシトール (PI) の加水分解とカップリングする BK1、BK2 の 2 つの型が存在し、血管内皮細胞に局在していると言われている (Smith et al., 1995)。

まとめると、トリプターゼ、トロンビン、ブラジキニンによって引き起こされる血管内皮細胞 barrier 機能障害において、フォスファチジルイノシチドの加水分解に引き続くプロテインキナーゼ C の活性化および IP3 受容体の活性化を介した $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が共通の細胞内シグナリングであると考えられる。

本実験において、イオノマイシンや A-23187 のような Ca^{2+} イオノフォアは著明な血管内皮細胞の透過性亢進を引き起こした (Figure 6)。このイオノマイシンの効果は BAPTA/AM の細胞内カルシウムのキレート化によって改善された。このことはイオノマイシン誘発の血管内皮細胞の透過性亢進は $[Ca^{2+}]_i$ を介した作用であることを示している。 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は Ca^{2+} /calmodulin 依存性のミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) を活性化し (Garcia et al., 1995; Goeckeler et al., 1995)、その結果ミオシン軽鎖 (MLC) のリン酸化が促進され、actin-myosin 相互作用が起こり globular actin (G-actin) から Filamentous actin (F-actin) への重合を引き起こす (Goeckler et al., 1995)。F-actin の形成により内皮細胞の収縮が起こり、細胞間での gap 形成が惹起され、細胞透過性の亢進が引き起こされる (Dudek et al., 2001)。AC-17 は $10\mu M$ の濃度にてイオノマイシンおよび A-23187 誘発の内皮細胞 barrier 機能障害に影響を与えなかった (Figure 5B, 5C)。それゆえに AC-17 は、受容体刺激から内皮細胞透過性亢進を引き起こすまでの細胞内シグナリングにおいて、 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇以降のプロセスには影響を与えないことが示唆された。

一方、プロテインキナーゼ C の活性化を引き起こすと言われている Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) を PAECs に暴露したところ、著明に内皮細胞透過性を亢進した (Figure 7)。この PMA の作用はプロテインキナーゼ C 阻害剤である calphostin C および Rho キナーゼ阻害剤である Y-27632 によって改善された (Figure 7A)。それゆえに、PMA による内皮細胞透過性亢進作用はプロテインキナーゼ C および Rho キナーゼを介したものであることが確認された。プロテインキナーゼ C 活性化は Rho-GDP 複合体からのグアニンヌクレオチド解離を阻害する因子 (GDI) のリン酸化を惹起してこの GDI の作用を阻害することで低分子 GTP 結合タンパクである Rho を活性化する (Mehta et al., 2001)。活性化された Rho は Rho キナーゼを活性化し、リン酸化されたミオシン軽鎖の脱リン酸化を阻害することにより、もしくは直接ミオシン軽鎖のリン酸化を促進する。内皮細胞において、トロンビンによる PAR-1 刺激によりミオシン軽鎖のリン酸化を誘発し、actin stress fiber の増大、透過性の亢進をひき起こす (Dudek et

al., 2001)。また、この作用は Rho キナーゼ阻害剤である Y-27632 によって抑制されたとの報告がある (Carbajal et al., 2000)。このことはトロンビンによる内皮 barrier 機能障害がプロテイン C の活性化を介しているだけではなく、引き続く Rho/Rho キナーゼの活性化が関与することを示唆している。つまり、さきほどの $[Ca^{2+}]_i$ の上昇に引き続く経路とあわせて考えると、内皮 barrier 機能を制御する細胞内メカニズムにおいて $[Ca^{2+}]_i$ の上昇に由来する Ca^{2+} /calmodulin 依存性ミオシン軽鎖キナーゼによるミオシン軽鎖のリン酸化、およびプロテインキナーゼ C に由来する Rho キナーゼによるミオシン軽鎖のリン酸化促進は重要な位置を占めていることが示唆される (Dudek et al., 2001)。本実験において、AC-17 は 10 μ M においてもこの PMA 誘発のプロテインキナーゼ C 活性化、さらにこれに続く Rho キナーゼの活性化を介した血管内皮細胞 barrier 機能障害を抑制しなかった (Figure 7B)。それゆえに、AC-17 は受容体刺激から内皮細胞透過性亢進を引き起こすまでの細胞内シグナリングにおいて、プロテインキナーゼ C 活性化以降のプロセスには影響を与えないことが示唆された。

血管内皮細胞の barrier 機能は細胞間接着機構によって制御されている。VE-cadherin は細胞間の接着に寄与するタンパクであり、隣り合う細胞同士の間で VE-cadherin と結合することで細胞間は強固に接着する (Dajena et al., 1995)。VE-cadherin は細胞内で β -catenin と結合しそこに α -catenin が結合して、actin 細胞骨格と連結している (Lampugnani et al., 1995)。トロンビンのような内皮バリア機能を破壊させる刺激により、VE-cadherin 複合体は細胞間隙から消失する (Rabiet et al., 1996)。また、actin stress fiber が形成され内皮細胞が収縮し、gap が形成される。プロテインキナーゼ C のアイソフォーム (PKC- α) の活性化により、培養ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HMVEC) において VE-cadherin の構築が崩壊したとの報告がある (Sandoval et al., 2001)。本実験においても、内皮細胞透過性の亢進にともなって VE-cadherin 様免疫活性の消失および付随する actin stress fiber の増加が引き起こされることが確かめられた (figure 9)。AC-17 がトリプターゼ誘発の血管透過性亢進と同様に VE-cadherin の消失および actin stress fiber 形成増強を改善したことは明らかである (figure 9-3)。

これまでの結果より AC-17 は、様々な血管作動薬が介するフォスフォイノシチド (PI) の加水分解を抑制する可能性が生じた。それゆえに、これを確かめるためにトロンビン、ブラジキン刺激によって引き起こされる $[^3H]$ ミオイノシトールからの $[^3H]$ IP3 形成における AC-17 の効果を検討した。

本研究において初めて、AC-17 がこれらの血管作動薬誘発のフォスフォイノシチド加水分解の亢進を改善することを示した (Figure 8)。それゆえに、フォス

フォイノシチドの加水分解の阻害がトリプターゼなどのような血管作用薬によって引き起こされる血管透過性亢進に対する AC-17 の主な作用メカニズムであることが示唆された。

以上をまとめると、AC-17 は PAECs において、トリプターゼやトロンビン、ブラジキニンといった様々な血管作用薬によって誘発される血管内皮細胞の barrier 機能障害を抑制することがわかった。AC-17 は $[Ca^{2+}]_i$ の上昇もしくはプロテインキナーゼ C の活性化によって引き起こされる内皮細胞透過性亢進において影響を示さなかったことから、AC-17 の内皮細胞に対する保護作用のメカニズムとしてフォスフォイノシチドの加水分解の抑制が考えられた。

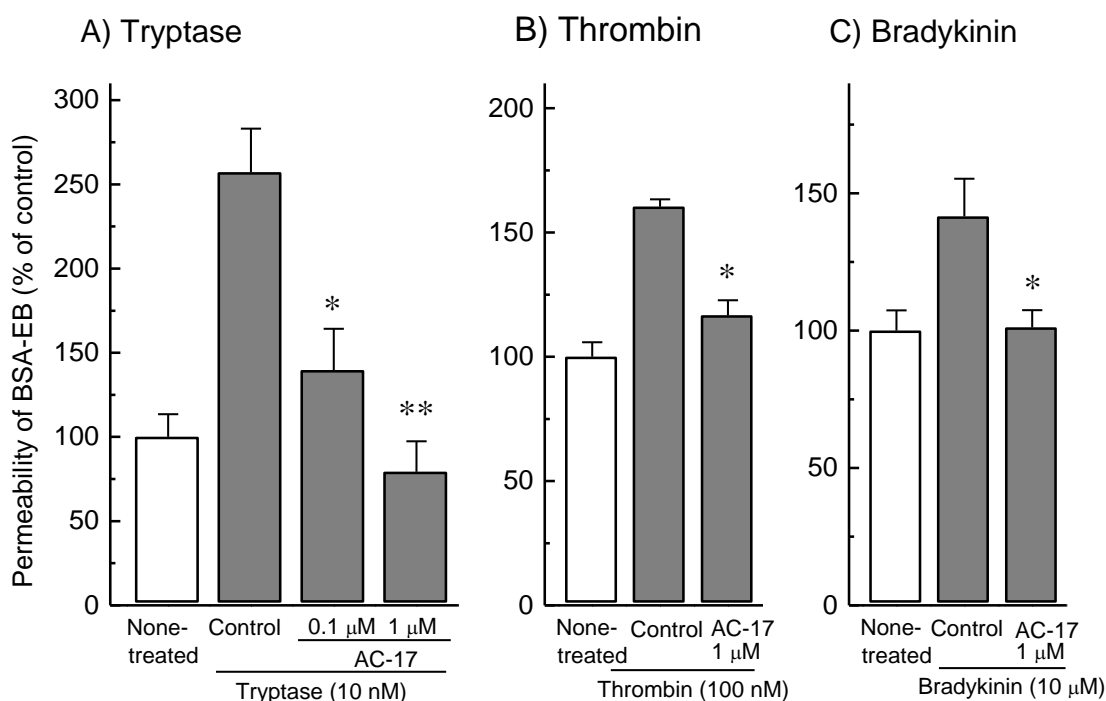


Figure 5 Inhibitory effect of carbazochrome sodium sulfonate (AC-17) on the barrier dysfunction induced by tryptase (A), thrombin (B) and bradykinin (C) in PAECs. Endothelial barrier function was determined by the clearance of BSA-conjugated Evans blue dye. Each column represents the mean \pm S.E.M. of 4-5 experiments. *P<0.05, **P<0.01 vs. Control.

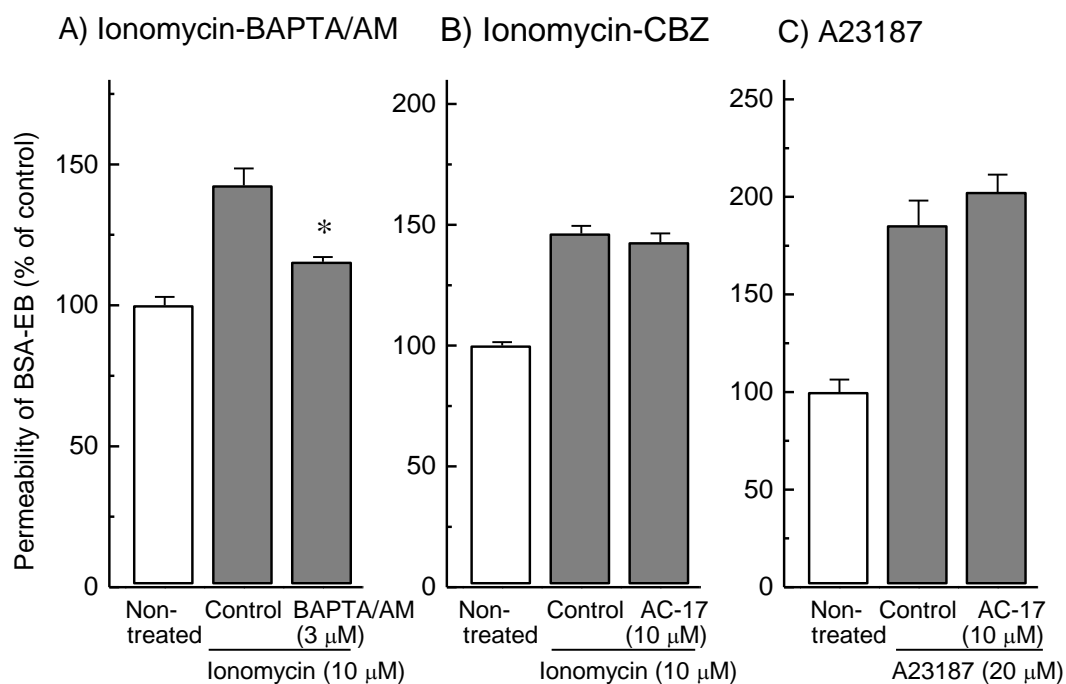


Figure 6 Lack of effect of AC-17 on the barrier dysfunction induced by the elevation of intracellular Ca^{2+} in with ionomycin (A, B) or A23187 (C). Each column represents the mean \pm S.E.M. of 7-9 experiments.

* $P < 0.05$ vs. Control

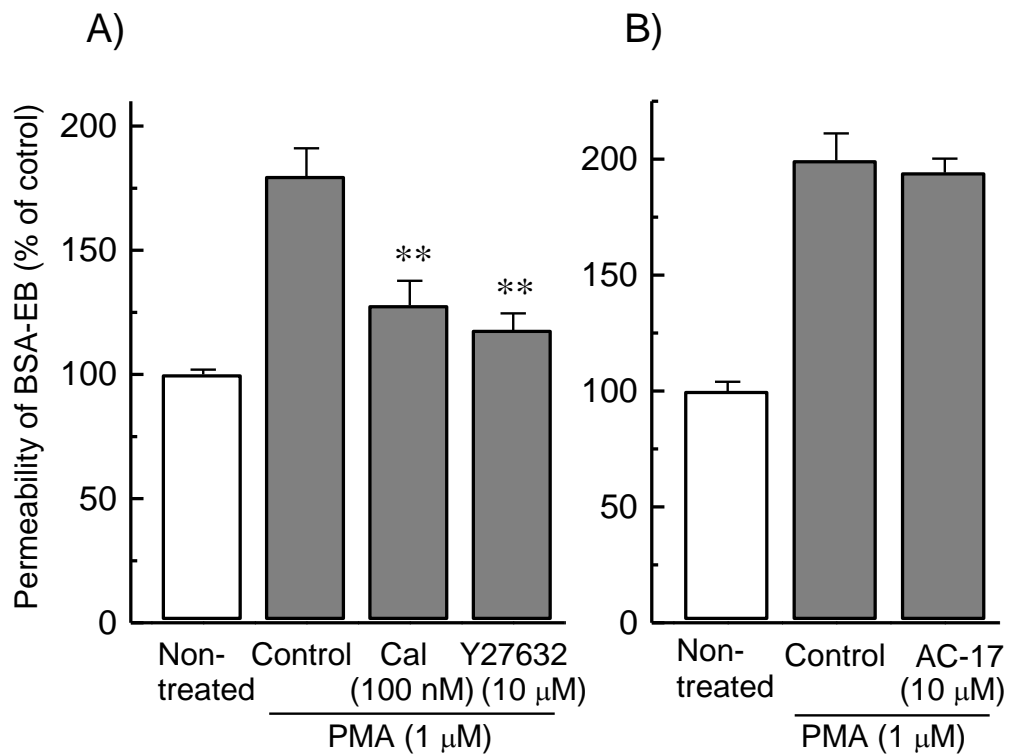
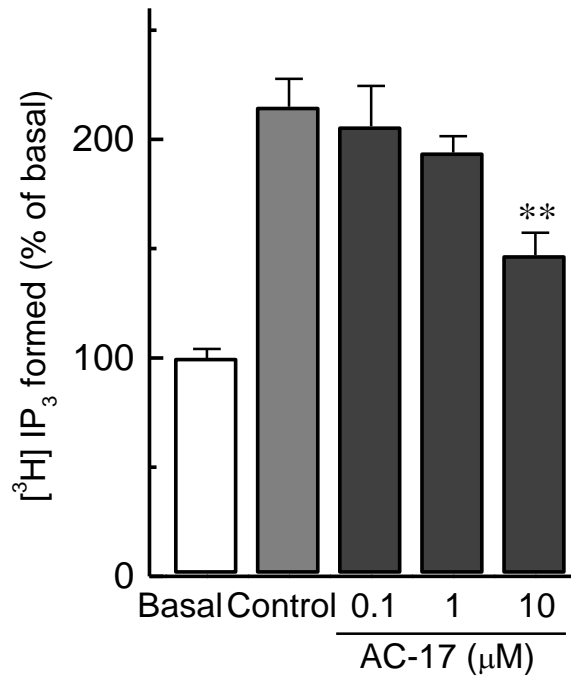


Figure 7 Lack of effect of AC-17 on phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)-induced barrier dysfunction in PAECs. In A), cells were pretreated with 100 nM calphostin C (Cal), a PKC inhibitor, or 10 μM Y27632, a Rho kinase inhibitor. Each column represents the mean \pm S.E.M. of 4-5 experiments. ** $P < 0.01$ vs. Control.

A) Bradykinin 1 μ M



B) Thrombin 10 nM

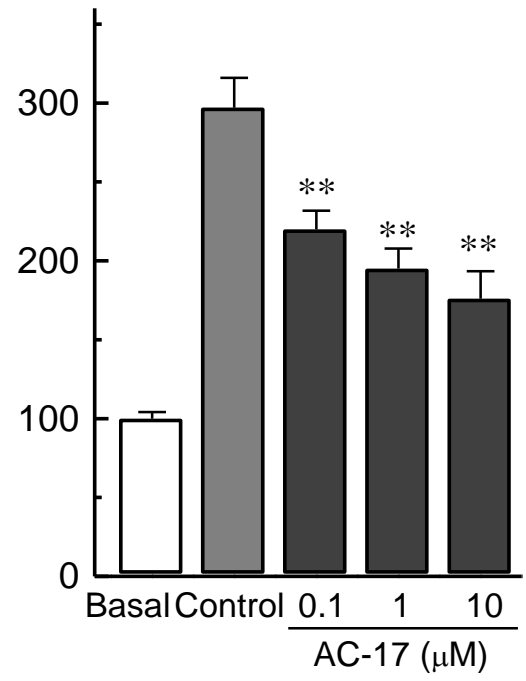


Figure 8 . Effect of AC-17 on [^3H]IP $_3$ formation stimulated by bradykinin (A) and thrombin (B) in PAECs. Cells were labeled with [^3H]myo-inositol for 15 h. After preincubation with 10 mM LiCl, cells were stimulated with 1 μM bradykinin or 10 nM thrombin. AC-17 was included 30 min before stimulation. The [^3H]IP $_3$ formed was measured at 30 sec after the stimulation. Values are expressed as the percentages of the basal level. The basal [^3H]IP $_3$ values (dpm) was 478 ± 21 (mean \pm S.E.M., N=6). Each column represents the mean \pm S.E.M. of 6 experiments

****P<0.01 vs. Control (Dunnett's test)**

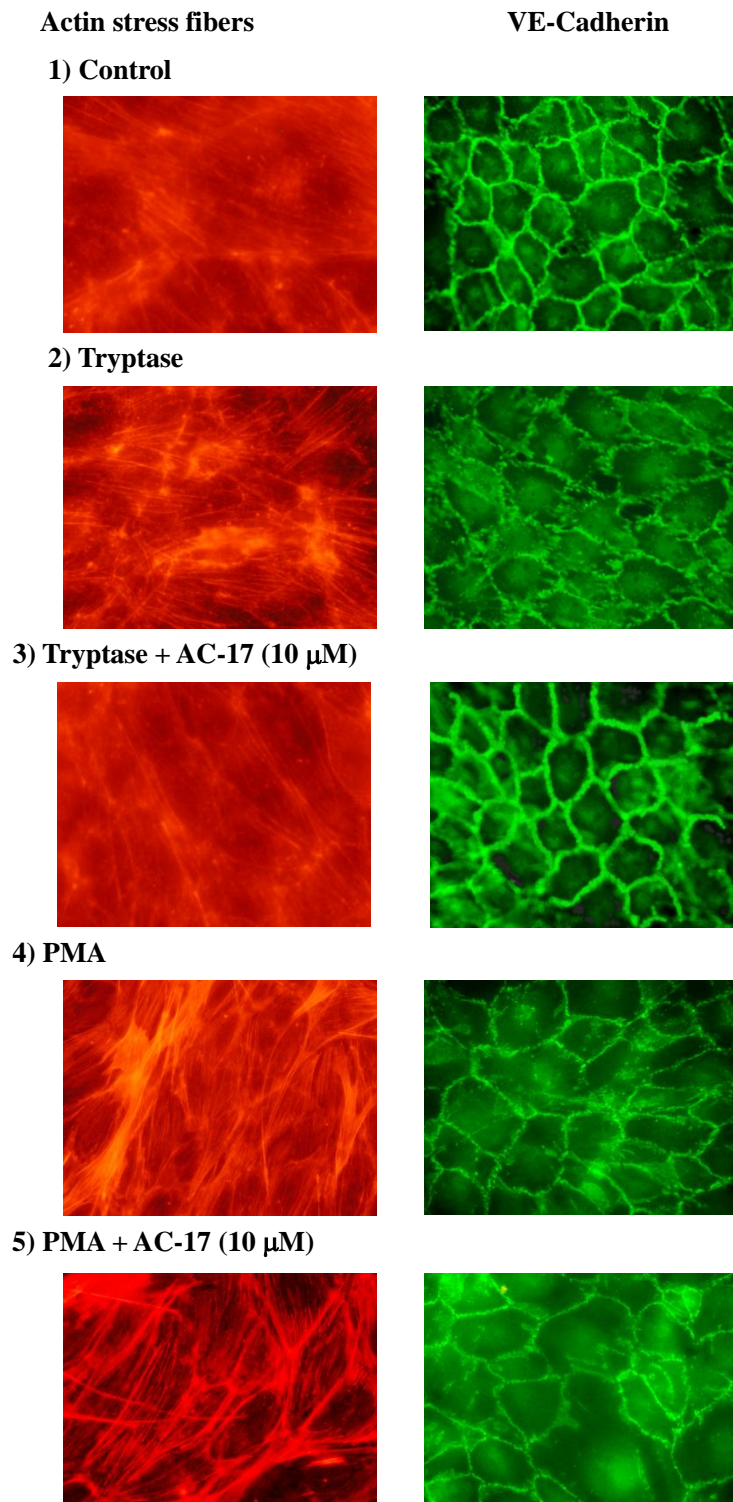


Figure 9. Representative photographs showing the formation of actin stress fibers and disappearance of VE-cadherin induced by tryptase and PMA, and the reversal by AC-17 of the tryptase-induced rearrangement of the immunoreactivities in PAECs. Cells were treated with 10 nM tryptase or 1 μ M PMA for 30 min in the presence or absence of AC-17 (10 μ M). Actin and VE-cadherin immunoreactivities were visualized under fluorescence microscopy.

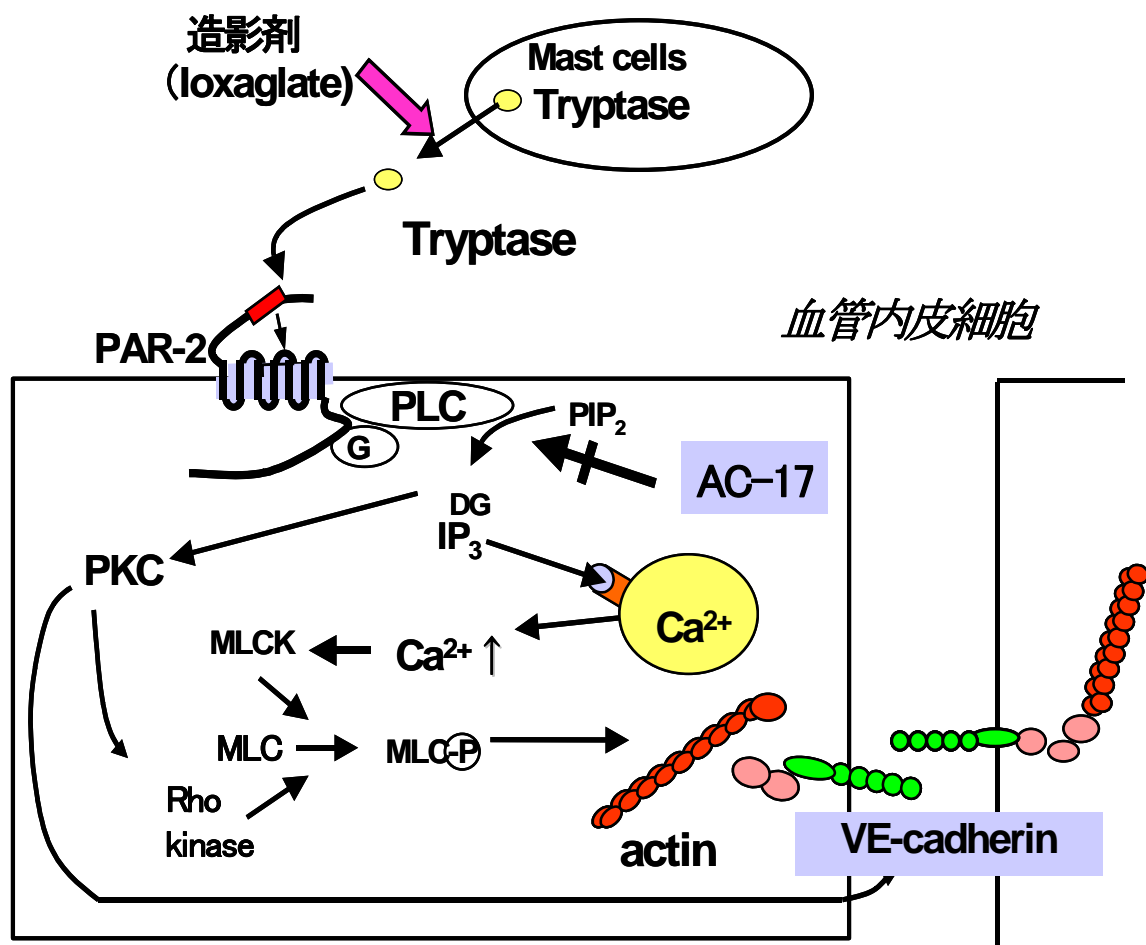


Figure 10 A schematic drawing showing the possible cellular mechanism underlying PAR-2-mediated disruption of endothelial barrier dysfunction. AC-17 inhibits phosphoinositides hydrolysis induced by tryptase.

引用文献

- Aagaard-Tillery K.M., Jelinek D.F., 1995. Differential activation of a calcium-dependent endonuclease in human B lymphocytes. Role in ionomycin-induced apoptosis. *J Immunol.* 155, 3297-307.
- Ali H., Pearce F.L. 1985. Isolation and properties of cardiac and other mast cells from the rat and guinea-pig. *Agents Actions* 16, 138-140.
- Amon E.U., Ennis M., Lorenz W., Schnabel M., Schneider C., 1990. Histamine release induced by radiographic contrast media. Comparison between pulmonary and peritoneal mast cells derived from normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 92, 203-208.
- Berridge M.J., Dawson R.M.C., Downes C.O., Heslop J.P., Irvine R.F., 1983. Changes in the levels of inositol phosphates after agonist-dependent hydrolysis of membrane phosphoinositides. *Biochem J* 212, 473-482.
- Beynon H.L., Walport M.J., Dawson P., 1994. Vascular endothelial injury by intravascular contrast agents. *Invest. Radiol.* 24, S195-S197.
- Bissonnette M., Tien X.Y., Niedziela S.M., Hartmann S.C., Frawley B.P. Jr, Roy H.K., Sitrin M.D., Perlman R.L., Brasitus T.A., 1994. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ activates PKC- α in Caco-2 cells: a mechanism to limit secosteroid-induced rise in [Ca²⁺]_i. *Am J Physio* 267, G465-75.
- Bush W.H., Swanson D.P., 1991. Acute reactions to intravascular contrast media: types, risk factors, recognition, and specific treatment. *Am J Roentgenol* 157, 1153-1161.
- Böhm S.K., Khitin L.M., Grady E.F., Aponte G., Payan D.G., Bunnett N.W., 1996. Mechanisms of desensitization and resensitization of proteinase-activated

- receptor-2. *J Biol Chem* 36, 22003-22016.
- Bouachour G., Varache N., Szapiro N., L'Hoste P., Harry P., Alquier P., 1991. Noncardiogenic pulmonary edema resulting from intravascular administration of contrast material. *Am J Roentgenol* 157, 255-256.
- Carbajal J.M., Gratrix M.L., Yu C.H., Schaeffer R.C. Jr., 2000. ROCK mediates thrombin's barrier dysfunction. *Am J Physiol-Cell Physiol* 279, C195-C204.
- Caron-Leslie L.A., Evans R.B., Cidlowski J.A., 1994. Bcl-2 inhibits glucocorticoid-induced apoptosis but only partially blocks calcium ionophore or cycloheximide-regulated apoptosis in S49 cells. *FASEB J* 8, 639-45.
- Chambers T.C., Zheng B., Kuo J.F., 1992. Regulation by phorbol ester and protein kinase C inhibitors, and by a protein phosphatase inhibitor (okadaic acid), of P-glycoprotein phosphorylation and relationship to drug accumulation in multidrug-resistant human KB cells. *Mol Pharmacol* 41, 1008-1015.
- Cogen F.C., Norman M.E., Dunsky E., Hirshfeld J., Zweiman B., 1979. Histamine release and complement changes following injection of contrast media in humans. *J Allergy Clin Immunol* 64, 299-303.
- Corvera C.U., Dery O., McConalogue K., Bohm S.K., Khitin L.M., Caughey G.H., Payan D.G., Bunnett N.W., 1997. Mast cell tryptase regulates colonic myocytes through proteinase-activated receptor-2. *J Clin Invest* 100, 1383-1393.
- Dawson P., 1985. Chemotoxicity of contrast media and clinical adverse effects: A review. *Invest Radiol* 20, S85-S91.
- Dehouck M.P., Jolliet-Riant P., Bree F., Fruchart J.C., Cecchelli R., Tillement J.P., 1992. Drug transfer across the blood-brain barrier: correlation between in vitro and in vivo models. *J Neurochem* 58, 1790-1797.

- Dejana E., Corada M., and Lampugnani M.G., 1995. Endothelial cell-to-cell junctions. *FASEB J* 9, 910-918.
- di Lauro E., D'Amato G., Antonucci, Schinco G., Valeri F., 1999. Acute pulmonary edema from contrast media. A clinical case. *Minerva Anesthesiol* 65, 581-587.
- Dudek S.M., Garcia J.G., 2001. Cytoskeletal regulation of pulmonary vascular permeability. *J Appl Physiol* 91, 1487-1500.
- Dumont A.E., 1990 International albumin-bound dye concentrations in imice with a protein-rich effusion. *Proc Soc Exp Bio Med.* 194, 221-223
- Ehringer W.D., Edwards M.J., Miller F.N., 1996. Mechanisms of alpha-thrombin, histamine, and bradykinin induced endothelial permeability. *J Cell Physiol* 167, 562-569.
- Furuta W., Yamauchi A., Dohgu S., Nakagawa S., Sendo T., Makino K., Oishi R., Kataoka Y., 2002. Contrast media increase vascular endothelial permeability by inhibiting nitric-oxide production. *Invest Radiol* 37, 13-19.
- Garcia J.G., 1992. Molecular mechanisms of thrombin-induced human and porcine endothelial cell activation. *J Lab Clin Med* 120, 513-520.
- Garcia J.G., Davis H.W., Patterson C.E., 1995. Regulation of endothelial cell gap formation and barrier dysfunction: role of myosin light chain phosphorylation. *J Cell Physiol* 163, 510-522.
- Garcia J.G.N., Sifinger-Birnboim A., Bizios R., Del Vecchio P.J., Fenton J.W., Malik A.B. 1986. Thrombin-induced increase in albumin permeability across the endothelium. *J Cell Physiol* 128, 96-104.
- Goromaru T., Sendo T., Itoh Y., Sakai N., Teshima D., Oishi R., 2002. Evidence for involvement of mast cell degranulation and subsequent stimulation of histamine

- H1 and H2 receptors in radiographic contrast media-increased vascular permeability in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 366, 605-612.
- Goeckeler Z.M., Wysolmerski R.B., 1995. Myosin light chain kinase-regulated endothelial cell contraction: the relationship between isometric tension, actin polymerization, and myosin phosphorylation. *J Cell Biol* 130, 613-627.
- Hayashi H., Kumazaki T., Asano G., 1994. Pulmonary edema following high intravenous doses of ionic contrast media: experimental study in rats. *Radiat Med* 12, 47-52.
- He S., Walls A.F., 1997. Human mast cell tryptase: a stimulation of microvascular leakage and mast cell activation. *Eur J Pharmacol* 328, 89-97.
- Henriksen R.A., Samokhin G.P., Tracy P.B., 1997. Thrombin-induced thromboxane synthesis by human platelets. Properties of anion binding exosite I-independent receptor. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 17, 3519-3526.
- Hogan A.D., Schwartz L.B., 1997. Markers of mast cell degranulation. *Methods* 13, 43-52
- Itoh Y., Oishi R., Adachi N., Saeki K., 1992. A highly sensitive assay for histamine using ion-pair HPLC coupled with postcolumn fluorescent derivatization. *J Neurochem* 58, 884-889.
- Kawabata A., Kuroda R., Minami T., Kataoka K., Taneda M., 1998. Increase vascular permeability by a specific agonist of protease-activated receptor-2 in rat hindpaw. *Br J Pharmacol* 125, 419-422.
- Kiyonaga I., 1960. Studies on the mechanism of the action of the blood vessel strengthening drugs: On the influence of spreading factor upon the capillary fragility. *Bull Institute Constitutional Med: Kumamoto Univ* 10, 307-317.

- Kodera M., Nitta T., Uchida K., 1966. Clinical and basic studies on the massive administration of adrenochrome semicarbazone sulfonate (AC-17). *Jpn J Clin Exp Med* 43, 357-367.
- Lalli A.F., 1980. Contrast media reactions: Data analysis and hypothesis. *Radiology* 134, 1-12.
- Lampugnani M.G., Corada M., Caveda L., Breviario F., Ayalon O., Geiger B., Dejana E.R., 1995. The molecular organization of endothelial cell to cell junctions: differential association of plakoglobin, α -catenin, and β -catenin with vascular endothelial cadherin (VE-cadherin). *J Cell Biol* 129, 203-217.
- Laroche D., Aimone-Gastin I., Dubois F., Huet H., Gerard P., Vergnaud M.C., Mouton-Faivre C., Gueant J.L., Laxenaire M.C., Bricard H., 1998. Mechanisms of severe, immediate reactions to iodinated contrast material. *Radiology* 209,183-190.
- Lynch J.J., Ferro T.J., Blumenstock F.A., Brockenauer A.M., Malik A.B., 1990. Increased endothelial albumin permeability mediated by protein kinase C activation. *J Clin Invest* 85, 1991-1998.
- Mehta D., Rahman A., Malik A.B., 2001. Protein kinase C- α signals rho-guanine nucleotide dissociation inhibitor phosphorylation and rho activation and regulates the endothelial cell barrier function. *J Biol Chem* 276, 22614-22620.
- Molino M., Barnathan E.S., Numerof R., Clark J., Dreyer M., Cumashi A., Hoxie J.A., Schechter J.A., Woolkalis M., Brass L.F., 1997. Interaction of mast cell tryptase with thrombin receptors and PAR-2. *J. Biol. Chem.* 272: 4043-4049.
- Moriuchi H., Kashiwada Y., Arai I., Yuizono T., 1995. Effects of carbazochrome sodium

- sulfonate (AC-17) on oleic acid-induced lung injury. *Pharmacol. Toxicol* 77, 238-240.
- Nystedt S., Emilsson K., Wahlestedt C., Sundelin J., 1994. Molecular cloning of a potential proteinase activated receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 9208-9212.
- Oike M., Ito Y., 1997. Dynamic regulation of intracellular Ca^{2+} concentration in aortic endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 319, 291-298.
- Oka M., Itoh Y., Tatsumi S., Ma F-H Ukai Y., Yoshikuni Y., Kimura K., 1997. A novel cognition enhancer NS-105 modulates adenylate cyclase activity through metabotropic glutamate receptors on primary neuronal culture. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 356, 189-196.
- Patterson C.E., Rhoades R.A., Garcia J.G., 1992. Evans Blue dye as a marker of albumin clearance in cultured endothelial monolayer and isolated lung. *J Appl Physiol* 72, 865-873.
- Peachell P.T., Morcos S.K., 1998. Effect of radiographic contrast media on histamine release from human mast cells and basophils. *Br J Radiol* 71, 24-30.
- Rabiet M.J., Plantier J.L., Rival Y., Genoux Y., Lampugnani M.G., Dejana E., 1996. Thrombin-induced increase in endothelial permeability is associated with change in cell-to-cell junction organization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16, 488-496.
- Robertson P.W., Frewin D.B., Robertson A.R., Mahar L.J., Jonsson J.R., 1985. Plasma histamine levels following administration of radiographic contrast media. *Br J Radiol* 58, 1047-1051.
- Rogers D.F., Boschetto P., Barners P.J., 1989. Plasma exdation:Correlation between evanse ble dye and radiolabaeled albumin in guinea pig airways in vivo. *J Pharmacol Methods* 21, 309-315

- Saldeen T., 1979. The microembolism syndrome: a review Saldeen, Editor, The Microembolism Syndrome. Almqvist and Wiksell International, Stockholm 7-44.
- Sandoval R., Malik A.B., Minshall R.D., Kouklis P., Ellis C.A., Tirupathi C., 2001. Ca^{2+} signaling and $\text{PKC}\alpha$ activate increase endothelial permeability by disassembly of VE-cadherin junction. *J Physiol* 533, 433-445.
- Schaeffer R.C., Gong F., Bitrick M.S., Smith T.L., 1993. Thrombin and bradykinin initiate discrete endothelial solute permeability mechanisms. *Am J Physiol* 264, H1798-H1809.
- Schwartz L.B., 1990. Tryptase, a mediator of human mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 86, 594-598.
- Sendo T., Goromaru T., Aki K., Sakai N., Itoh Y., Oishi R. 2002. Carbazochrome attenuates pulmonary dysfunction induced by a radiographic contrast medium in rats. *Eur J Pharmacol* 450, 203-208.
- Sendo T., Itoh Y., Goromaru T., Sumimura T., Yano T., Oishi R. 2003-a A potent tryptase inhibitor nafamostat mesilate dramatically suppressed pulmonary dysfunction induced by a radiographic contrast medium. *Br J Pharmacol* 138, 959-967.
- Sendo T., Sumimura T., Itoh Y., Goromaru T., Aki K., Yano T., Oike M., Ito Y., Mori S., Nishibori M., Oishi R. 2003-b Involvement of proteinase-activated receptor-2 in mast cell tryptase-induced barrier dysfunction in bovine aortic endothelial cells. *Cell Signal* 15, 773-781.
- Sendo T., Hirakawa M., Fujie K., Kataoka Y., Oishi R., 1999. Contrast medium-induced pulmonary edema is aggravated by silicone contamination in rats. *Radiology* 212,

97-102.

Sendo T., Kataoka Y., Takeda Y., Furuta W., Oishi R., 2000. Nitric oxide protects against contrast media-increased pulmonary vascular permeability in rats. *Invest Radiol* 35, 472-478.

Shimizu H., Omoto T., Etsumune I., Uchida H., 1965. On the massive dose administration of adrenochrome semicarbazone sulfonate (AC-17). *Med Consul New Remedies* 2, 421-426.

Smith J.A., Webb C., Holford J., Burgess G.M., 1995. Signal transduction pathways for B1 and B2 bradykinin receptors in bovine pulmonary artery endothelial cells. *Mol Pharmacol* 47, 525-534.

Stellato C., de Crescenzo G., Patella V., Mastronardi P., Mazzarella B., Marone G., 1996. Human basophil/mast cell releasability. XI. Heterogeneity of the effects of contrast media on mediator release. *J Allergy Clin Immunol* 97, 838-50.

Uehata M., Ishizaki T., Satoh H., Ono T., Kawahara T., Morishita T., Tamakawa H., Yamagami K., Inui J., Maekawa M., Narumiya S., 1997. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature* 389(6654), 909-911.

van Nieuw Amerongen G.P., Draijer R., Vermeer M.A., van Hinsbergh V.W., 1998. Transient and prolonged increase in endothelial permeability induced by histamine and thrombin. *Circ Res* 83, 1115-1123.

Vergnolle N, Hollenberg MD, Sharkey KA, Wallace JL 1999. Characterization of the inflammatory response to proteinase-activated receptor-2 (PAR-2)-activating peptides in the rat paw. *Br J Pharmacol* 127, 1083-1090.

Vergnolle N., Wallace J.L., Bunnett N.W., Hollenberg M.D., 2001. Protease-activated

receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *Trends Pharmacol Sci* 22, 146-152.

Zhan X., Agrawal D.K., Thorpe P.E., 1998. Effect of iodinated contrast media on neutrophil adhesion to cultured endothelial cells. *J Vasc Intervent Radiol* 9, 808-816.

Zhao Y., Davis H.W., 1999. Signaling pathways in thrombin-induced actin reorganization in pulmonary artery endothelial cells. *Exp Lung Res* 25, 23-39.

第4章 救急・集中治療におけるバンコマイシン(VCM)血中濃度管理への専任薬剤師の関与

はじめに

平成19年に厚生労働省から発表された「集中治療室(ICU)における安全管理について(報告書)」¹⁾において、ICUにおける薬剤師の関与指針が明確化された。また、平成20年4月の診療報酬改定に伴い、ICU・救命救急センターに入室した意識の無い患者に対しても薬剤管理指導料の算定が可能となった。平成23年7月には日本臨床救急医学会において救急認定薬剤師制度が創設され、各施設において救急医療、集中治療チームの一員として薬剤師が急性期患者の薬物療法に参画している²⁻⁴⁾。

長崎大学病院(以下、当院)では、全入院患者を対象に主治医の指示のもと薬剤部にてVCMの血中濃度測定解析を行い投与計画の提案を行っている。ICU・救命救急センターへの専任薬剤師配置以前は一般病棟と同様に薬剤部内での解析を行っていた。ICU・救命救急センターに入院する患者は、VCMのクリアランスに影響を与える因子が刻々と変化するため薬剤部にて主治医の指示のもと、投与設計を行うことは非常に困難であり、治療効果および副作用の観点からリスクを生じると考えられる。専任薬剤師が配置されたことで、ICU・救命救急センターにおいて、薬剤師が患者を直接観察しながら薬物投与計画へ積極的に介入を行うことができるようになった。

目的

本調査では、ICU・救命救急センター専任薬剤師が治療薬物モニタリング(therapeutic drug monitoring: 以下 TDM)によるVCM投与計画へ積極的に介入を行うことで、VCM血中濃度治療域の適切な維持に貢献できているか明らかにする。

方法

1. 対象患者

当院では、平成23年4月より専任薬剤師を常駐配置し、平日日勤帯の薬剤師業務を開始した。

専任薬剤師本格導入後の平成23年6月から12月までの間にICU・救命救急センターにおいて4日以上VCMが静脈投与された患者全例を介入群、専任薬剤師導入以前の平成22年6月から12月までの同期間に4日以上VCMが静脈内投与された患者全例を非介入群の2群に分け、以下の項目につき比較検討した。

2. 調査項目

VCM 血中濃度が治療域に入っている範囲を血中濃度トラフ値として $15 \mu\text{g/mL}$ 以上、 $25 \mu\text{g/mL}$ 以下とした。また、中毒域は血中濃度トラフ値として $30 \mu\text{g/mL}$ を超える値とした 5)。

VCM 血中濃度トラフ値から治療域の維持率、トラフ値 $30 \mu\text{g/mL}$ を超える中毒域到達率について調査した。また、VCM 投与開始 4 日以内の TDM 実施率、VCM 血中濃度トラフ値の平均測定間隔を調査した。また、VCM 開始後 28 日の生存率、VCM 投与開始後の ICU・救命救急センター滞在日数、血中濃度測定時の血清クレアチニン値についても合わせて調査を行った。

3. 介入方法

患者観察による血清クレアチニン値の補正、低心機能や血圧の低下に伴う尿量変動の確認、マイナスバランスへの利尿管理方針や脱水所見の確認等、VCM の腎クリアランスと関連する腎血流量に影響する因子のモニタリングを行う。また、腹水ドレナージ等血液性排液量、持続的血漿濾過透析または血液透析の施行状況・施行方針による VCM の腎外クリアランスに影響する因子のモニタリングを行う。これらの情報をもとに、患者の状態に合わせた VCM の初期投与設計へ関与し薬剤部での TDM に反映させると同時に、状態変化に応じて適切な TDM 実施タイミングを提案する。例えば、循環不全による尿量低下発現時には、検査値・全身状態・尿量などから、経験的に予測されるクレアチンクリアランスに合わせた投与計画を提案するとともに、VCM の血中濃度確認に合わせて半減期を求めるために血中濃度測定日の提案も行い、継続的に投与計画の補正を行う等の介入を実施する。また、持続血漿濾過透析の開始方針を確認した際は、施行時間や濾過透析の設定条件から透析による VCM 濾過量を予測し、その量を上乘せした投与量を提案する 6)。さらに血中濃度測定日を提案し投与計画の評価・再検討を実施する。

4. 測定方法

血中濃度の測定は、ラテックス免疫凝集阻害(PETINIA)法を用い、解析及び投与設計は、1 コンパートメントモデルに基づく血中濃度予測式並びに塩野義製薬(株)提供の TDM 解析ソフト E-edition を用いて行った。

5. 群間比較の統計解析方法

2 群間の比較には Student's t-test、Mann-Whitney U-test、Fischer の正確確率法をそれぞれ用いた。いずれも危険率が 5%未満の場合を有意と判定した。

結果

介入群と非介入群の患者背景を表 1 に示す。介入群と非介入群の患者背景のうち、性別に有意な差が認められたが、その他は有意な差は認められなかった。

VCM 血中濃度トラフ値の治療域の維持率を図 1 に示す。介入群では 61.7% (79 件/128 件) が治療域に保たれていた。非介入群では 46.9% (46 件/98 件) が治療域に保たれており、介入群で有意に VCM 血中濃度が治療域に保たれた ($p=0.031$)。

介入群及び非介入群における中毒域への到達率 (図 2) は、介入群で 2.3% (3 件/128 件)、非介入群で 10.2% (10 件/98 件) であり、介入群で有意に低かった ($p=0.018$)。

ICU・救命救急センターにおいて VCM が 4 日以上投与された患者の TDM 実施率 (図 3) は、介入群で 89.6% (43 名/48 名)、非介入群では 73.8% (31 名/42 名) であった ($p=0.059$)。

また、VCM 血中濃度トラフ値の平均血中濃度測定間隔 (図 4) は、介入群で 4.1 ± 1.5 日に 1 回、非介入群で 3.6 ± 1.5 日に 1 回であり、両群間で有意な差は認められなかった。

VCM 開始後 28 日の生存率、VCM 投与開始後の ICU・救命救急センター滞在日数については有意な差は認められなかった。また、VCM 血中濃度測定時の血清クレアチニン値についても両群間で有意差はなかった (表 2)。

考察

ICU・救命救急センターの重症患者は、原疾患の侵襲や病態による様々な炎症性メディエーターの放出、全身状態不良、薬剤による免疫抑制など、種々の状況により易感染状態を呈する 7)。また、重症感染症や敗血症性ショックの患者に対しては早急に適切な抗菌薬を投与することが推奨されており、患者背景によっては重篤な経過をたどるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (以下、MRSA) による感染を想定する機会が少なくない 8,9)。現在、MRSA に対して使用される注射用抗菌薬は、VCM、アルベカシン、テイコプラニン、リネゾリド、ダプトマイシンの 5 剤がある。VCM は、エビデンスの豊富さ、TDM が可能であることなどから、MRSA 感染症のスタンダード治療薬となっている 9)。一方で VCM は、VCM 耐性腸球菌や VCM 耐性黄色ブドウ球菌の出現、血中濃度上昇に伴う腎毒性が問題となっており、適正な投与管理が求められる 10)。

2012 年 6 月 TDM 学会と日本化学療法学会から共同で TDM の標準的な実施手法を定めた「抗菌薬 TDM ガイドライン」11) が公表された。VCM は安全性、有効性の面より、4 日以上投与する可能性のある患者に対して TDM を行うことが推奨されている。血中濃度トラフ値の目標値は $10 \sim 20 \mu\text{g/mL}$ とされているが、

菌血症、心内膜炎、骨髓炎、肺炎等は良好な臨床効果を得るために $15\sim 20\ \mu\text{g/mL}$ が推奨されている。当院では、本邦でのガイドラインが公表される以前より、2009 年に米国薬剤師会、米国感染症学会（Infectious Diseases Society of America: IDSA）より発表されたコンセンサスレビュー¹²⁾ や 2011 年に報告された IDSA の MRSA 感染症治療ガイドライン¹³⁾ を参照し、ICU・救命救急センターに入室する重症かつ複雑性感染症患者に対し、血中濃度トラフ値 $15\ \mu\text{g/mL}$ 以上を目標とした投与設計を行っている。

そこで、本調査においては、VCM 治療域の血中濃度トラフ値を $15\ \mu\text{g/mL}$ 以上、 $25\ \mu\text{g/mL}$ 以下とした。当院 ICU・救命救急センターにおける VCM 使用においては、感染部位とその重症度から $15\ \mu\text{g/mL}$ 以上に維持することを目標としている。 $20\ \mu\text{g/mL}$ 以上を示した場合に減量することによって $15\ \mu\text{g/mL}$ 未満に低下することを避けるために、副作用発現の監視強化の下、確実な効果を得ることを重視し、血中濃度トラフ値が $25\ \mu\text{g/mL}$ を超えない範囲で投与設計を行っている。

「抗菌薬 TDM ガイドライン」では、血中濃度トラフ値 $20\ \mu\text{g/mL}$ 以上は腎毒性の発現が高率となり推奨しないとしている¹¹⁾。一方、佐道らは、血清クレアチニン値の 30%以上の悪化を 5 割発現する血中濃度トラフ値は $28.5\ \mu\text{g/mL}$ であったと報告している¹⁴⁾。本調査では、治療域と中毒域を明確に分けるため、血中濃度トラフ値 $30\ \mu\text{g/mL}$ を超える中毒域への到達率について調査を行った。入室時に腎機能が低下している患者に対して、VCM 投与初期から薬剤師が投与設計に関与できたことが中毒域への到達率を低下させたと考えられる。

ICU・救命救急センターにおいて VCM 投与開始 4 日以内の TDM 実施率は、非介入群においては 73.8%であったのに対し、介入群では 89.6%と上昇する傾向が認められた。当院では VCM 投与患者への TDM 実施が感染制御教育センターから強く働きかけられているため、VCM の TDM 実施に対する意識が高かったことが伺えたが、病棟専任薬剤師が常駐することでさらに適切な投与管理が可能となっている。

VCM 血中濃度の平均測定間隔は、介入群と非介入群で有意な差はなかった。専任薬剤師は、血中濃度変動リスクを予知し測定間隔を狭め測定回数を増やすよう提案することがあるが、VCM クリアランス変動が安定していると考えられる患者については血中濃度測定間隔を延長するよう測定日の提案をおこなっている。このような薬剤師の関与があることから、VCM 血中濃度測定回数が非介入群に比べ増加しなかったことが示唆される。各患者の状態・治療経過に応じて測定タイミングを検討し、血中濃度測定にかかる業務量軽減、患者負担軽減、経費削減に貢献することは非常に重要な専任薬剤師の役割であると考ええる。

また、専任薬剤師導入前後で VCM 投与患者の状態が改善したかを検討するた

め、患者の生存率（VCM 開始後 28 日の生存率）、VCM 投与開始後の ICU・救命救急センター滞在日数について解析を行ったが有意な差は認められなかった。これは、今回の対象患者が経験的治療も含めて VCM が投与された全患者であり、MRSA 感染症ではない患者も含まれることから患者の予後に直接的な影響を及ぼさなかったと考えられる。また、VCM による腎障害については、血中濃度測定時の血清クレアチニン値について両群で差は得られなかった。循環不全の合併、多種薬剤の併用、持続的血漿濾過透析または血液透析など、腎機能が変動する因子が非常に多いため、VCM 血中濃度適正管理による腎機能への影響について適切に評価することは難しいと考える。臨床的指標について解析するには、対象患者を MRSA 感染症患者とし、腎機能への影響因子を近い条件とした群で評価を行う必要があると考える。

結論

ICU・救命救急センター専任薬剤師の積極的な介入により、VCM 血中濃度の測定頻度を増加させることなく VCM 血中濃度の適正な治療域の維持、中毒症の回避に貢献できることが明らかとなった。

緊急・重症症例における VCM 適正使用に対して専任薬剤師の果たすべき役割は非常に大きく、治療にあたる医療スタッフと積極的な連携を行っていくべきである。

引用文献

- 1) 厚生労働省医療安全対策検討会議: 集中治療室 (ICU) における安全管理指針検討作業部会: 集中治療室 (ICU) における安全管理について (報告書). 2007, p13-4.
- 2) 加藤隆寛, 萩原真生, 斎藤寛子, 他: Intensive care unit/coronary care unit における薬剤師業務の現状と課題. 日臨救急医学会誌 2010; 13: 596-603.
- 3) 安藝敬生, 八塚理恵, 裕健三, 他: ICU/CCU における薬剤師介入によるブレイバインド事例の解析. 医療薬学 2010; 36: 674-9.
- 4) 今井徹, 中馬真幸, 藏内恭子, 他: 救命救急センターにおける医薬品情報提供に基づく薬剤師 24 時間常駐の評価. 日病薬師会誌 2012; 48: 319-22.
- 5) 北海道 TDM 研究会: バンコマイシン. 唯野貢司編. TDM 実践ハンドブック. 薬事新報社, 東京, 2007, p74.
- 6) 三星知, 山田仁志, 平田憲雄: 持続的血液透析濾過患者における血中バンコマイシンの除去率. 日病薬師会誌 2006; 42: 1239-40.
- 7) 関井肇: 感染管理のアプローチ. 清水敬樹編. ICU 実践ハンドブック. 羊

士社, 東京, 2010, p389-436.

8) Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al: Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Intensive Care Med 2008; 36: 296-327.

9) 青木眞：レジデントのための感染症診療マニュアル. 医学書院, 東京, 2008, p184-97.

10) 有馬陽一, 炭山嘉伸:MRSA. 炭山嘉伸編. 周術期感染対策マニュアル. 南光堂, 東京, 2006, p73-75.

11) 日本化学療法学会抗菌薬 TDM ガイドライン作成委員会, 日本 TDM 学会 TDM ガイドライン策定委員会: 抗菌薬 TDM ガイドライン. 2012, p13-23

12) Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer JC, et al: Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. Am J Health Syst Pharm 2009; 66: 82-98.

13) Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, et al: Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant Staphylococcus Aureus infections in adult and children. Clin Infect Dis 2011; 52: e18-55.

14) 佐道紳一, 辻泰弘, 平木洋一, 他: 用量反応曲線を用いた塩酸バンコマイシンの腎機能障害発現の予測. 日病薬師会誌 2011; 47: 1294-6.

表 1. 患者背景

患者背景	介入群	非介入群	p値
症例数	48	42	–
総測定回数	128	98	–
年齢：歳	66±17	58±20	0.06
性別：男/女	34/14	16/26	0.0027
体重：kg	54.9±9.8	53.6±13.2	0.59
血清クレアチニン値：mg/dL 中央値	1.24 (0.36–4.67)	1.11 (0.25–3.53)	0.39
アルブミン値：g/dL 中央値	2.9 (1.7–4.9)	3.0 (1.7–3.9)	0.74
WBC: $\times 10^3 / \mu\text{L}$ 中央値	10.75 (1.3–42.2)	9.9 (0.1–40.6)	0.48
CRP: mg/dL 中央値	11.85 (0.92–36.98)	7.32 (0.79–37.13)	0.16
収縮期血圧：mmHg 中央値	108 (67–156)	107 (59–160)	0.88
抗菌薬の併用率：%	97.9	88.1	0.09

年齢、体重、VCM 開始時の血清クレアチニン値、アルブミン値、WBC、CRP、収縮期血圧、抗菌薬の併用率には差がなかったが、性別は介入群で有意に男性が多かった。

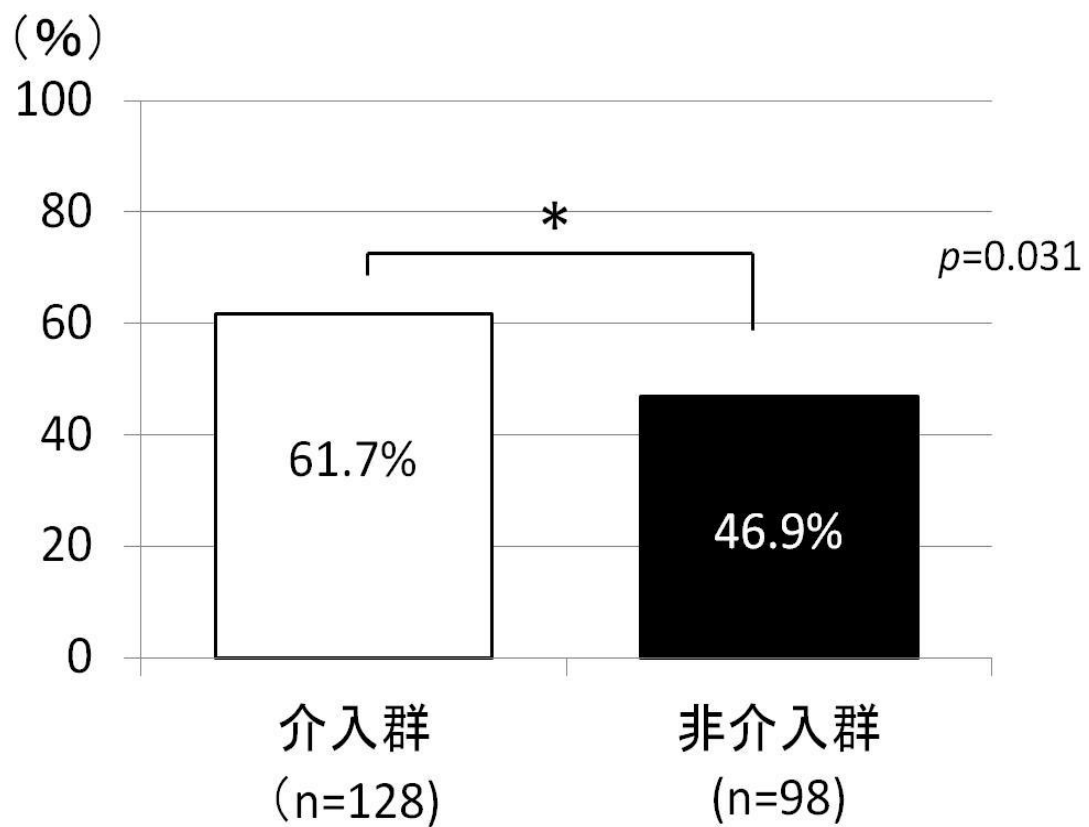


図 1. VCM 血中濃度トラフ値の治療域の維持率
介入群において有意に VCM 血中濃度トラフ値が治療域に維持された。

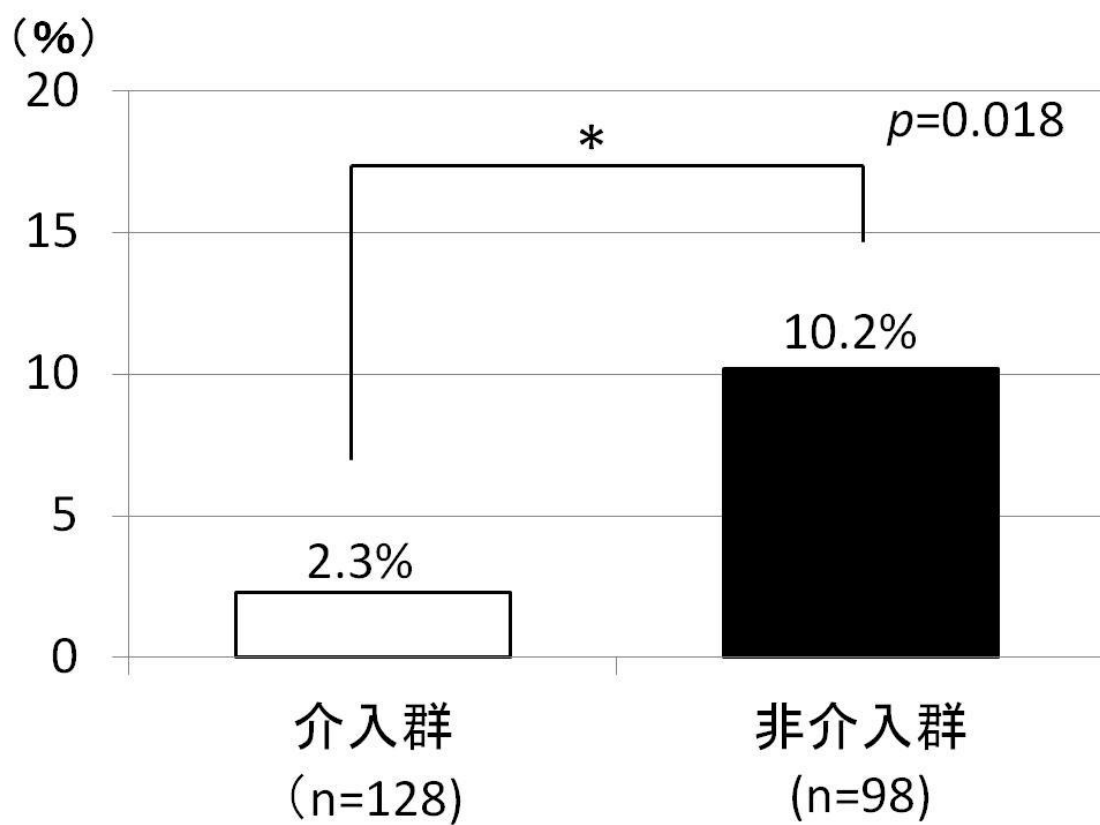


図 2. VCM 中毒域の到達率

非介入群において有意に VCM 血中濃度トラフ値が中毒域に到達した。

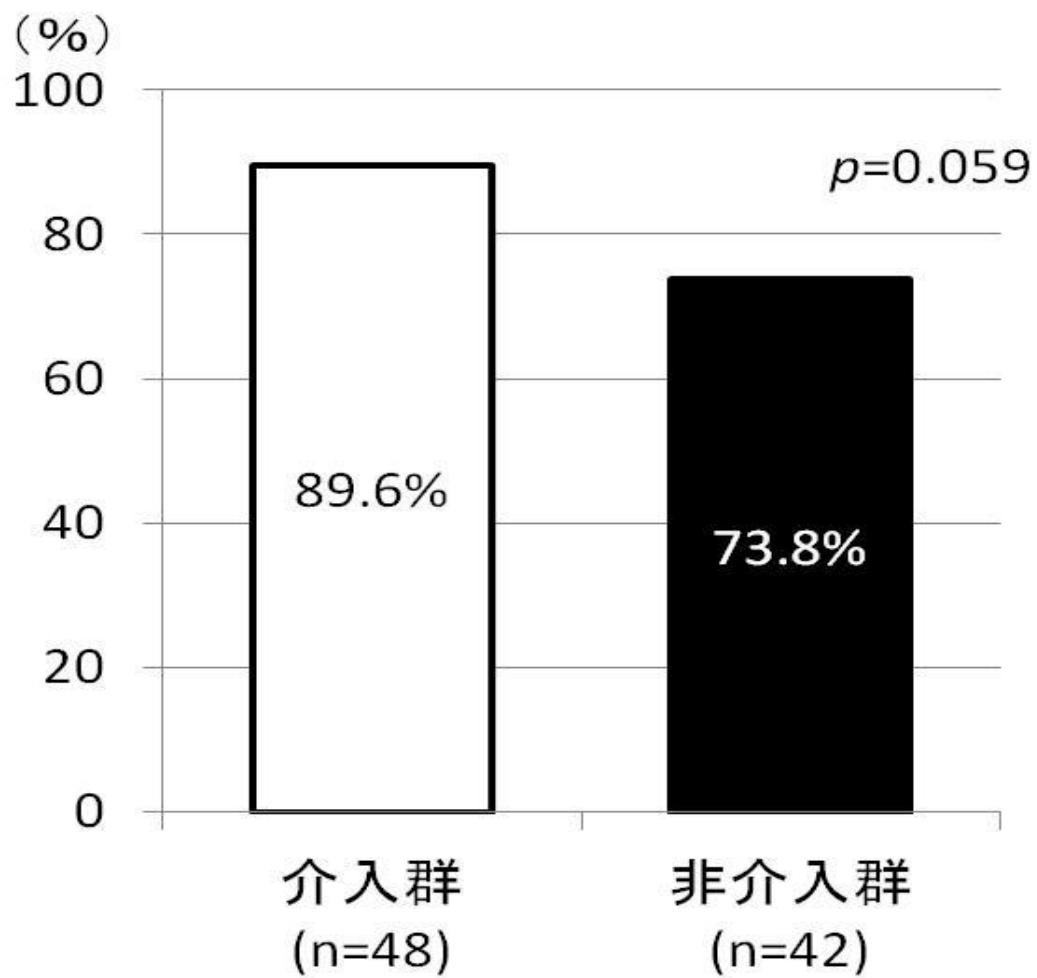


図 3. TDM 実施率

介入群において TDM 実施率が高い傾向を示した。

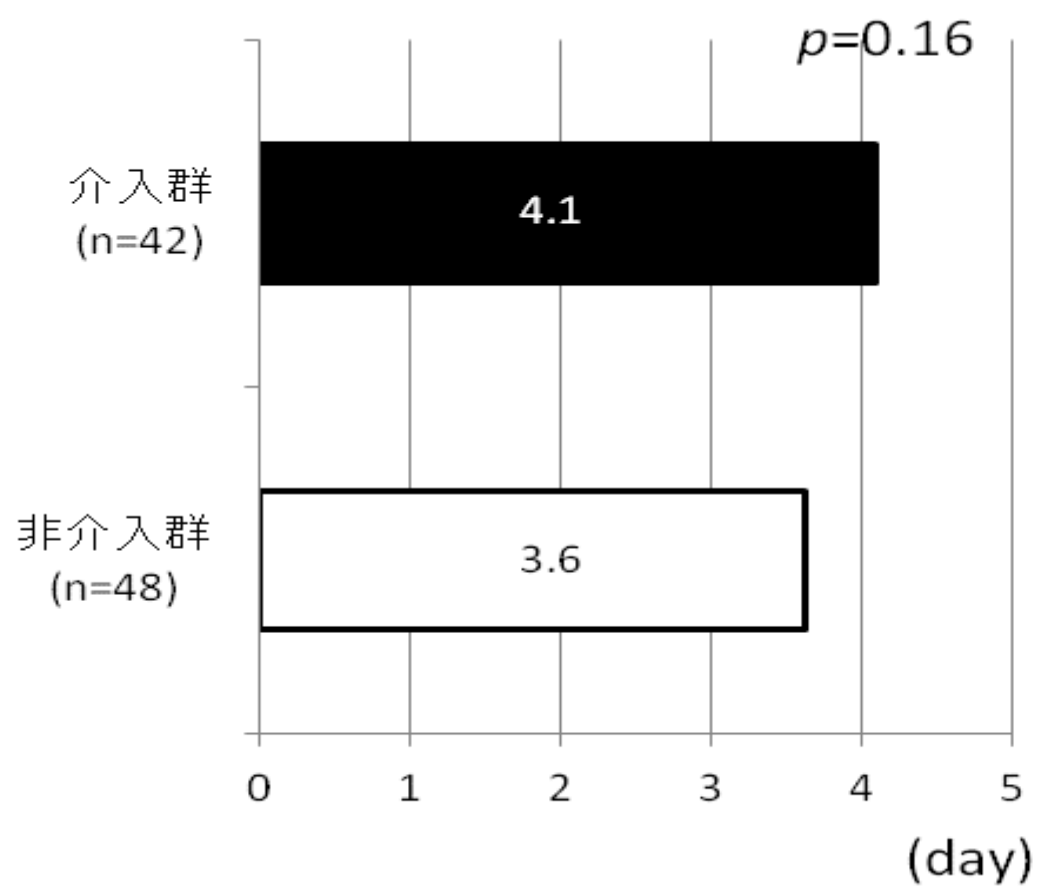


図 4. VCM 血中濃度の平均測定間隔
介入群と非介入群で VCM 血中濃度の平均測定間隔は差が無かった。

表 2. VCM 血中濃度管理への専任薬剤師の介入による臨床効果

	介入群	非介入群	p値
生存率(VCM開始後28日の生存率):%	81.3	76.2	0.61
VCM投与開始後のICU・救命救急センター滞在日数:day	13.9	12.5	0.42
血中濃度測定時の血清クレアチニン値:mg/dL 中央値	1.16	1.06	0.33

介入群と非介入群で生存率、ICU・救命救急センター滞在日数、VCM 血中濃度測定時の血清クレアチニン値に差が無かった。

総括

集中治療・救急医療領域では、様々な臓器障害と機能不全を合併した患者に多くの薬剤が投与される。このような患者に対して、薬剤師がチーム医療の一員として、その専門性をもとに治療の質、安全性の向上を図ることは非常に重要と考えられる。

しかし、集中治療・救急医療領域において薬剤師業務を本格的に実施している施設はまだ少なく、この領域における薬剤師業務の歴史も浅い。さらに、救急医療体制は施設間において若干の違いが存在することもあり薬剤師の業務基準やその業務の評価は明確となっていない。

本研究では、第 1 章において専任薬剤師による薬物療法への貢献、医薬品使用に伴うリスク回避への貢献を評価した。第 2 章では、ニカルジピン注射剤の静脈炎発生の危険因子について解析、検討を行った。また、血管造影剤投与後に伴う肺障害に対して効果的な予防法、治療法を検討するため、第 3 章にてラット肺を用いたカルバゾクロムスルホン酸ナトリウムの造影剤誘発肺障害に対する効果を示し、さらに培養ブタ大動脈血管内皮細胞 (PAECs) を用い、その保護効果の詳細なメカニズムについて検討した。第 4 章では、専任薬剤師の積極的な介入による VCM 血中濃度の適正な治療域の維持、中毒症の回避効果について検討した。

第 1 章では、集中治療専任薬剤師によるプレアボイド症例を解析することで、有害作用に対する回避と防止や、処方提案、不要薬剤の中止、抗菌薬投与への介入が特に多いことを示した。また、多診療科の患者へ関与が必要とされるなかで、介入回数はどの診療科に対しても平均的な介入頻度であった。集中治療における薬剤師の必要性及び果たすべき役割が明確となった。

第 2 章では、高血圧性緊急症に対して集中治療・救急医療領域においてしばしば使用されるニカルジピン注射液の点滴投与による静脈炎が臨床の現場において高頻度で発症していることを示した。静脈炎の危険因子についてロジスティック解析を行った結果、投与期間が 24 時間以上になると 24 時間未満に比べて、静脈炎の発症リスクは高くなることが推定された。年齢、性別、体重及び合併症の有無、投与部位及び投与速度については有意な差が無かった。集中治療・救急医療領域の臨床現場において 24 時間毎の投与部位の変更であれば実行可能性が高く、本対策法は静脈炎発症の低減化による患者の QOL 向上や予後改善に貢献できるものと考えた。

第 3 章では、集中治療・救急医療領域において高頻度に使用される血管造影

剤の重篤な致死的副作用である肺障害に対するカルバゾクロムスルホン酸ナトリウムの効果を検討した。血管造影剤誘発の肺障害モデルであるラット肺肺血管透過性亢進を、毛細血管強化薬であるカルバゾクロムスルホン酸ナトリウムが抑制したことを示した。さらに、カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムは造影剤誘発の動脈血酸素分圧（PaO₂）の低下も著明に回復させた。カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムは、ヨード造影剤によって引き起こされるラット肺肺血管透過性亢進に重大な役割を担っている肥満細胞脱顆粒に影響を与えなかったことからカルバゾクロムスルホン酸ナトリウムの血管造影剤誘発肺障害に対する保護効果は、血管内皮細胞の barrier 機能に対する安定化が示唆された。さらに、カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムの血管内皮細胞 barrier 機能に対する直接的な保護作用、およびその具体的な作用メカニズムを明確にするために、培養ブタ大動脈血管内細胞（PAECs）を用いて詳細に検討した。カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムは PAECs において、造影剤誘発肺障害の主な原因物質のトリプターゼだけでなくトロンビン、ブラジキニンといった様々な血管作用薬によって誘発される血管内皮細胞の barrier 機能障害を抑制することを示した。カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムは[Ca²⁺]_iの上昇もしくはプロテインキナーゼ C の活性化によって引き起こされる内皮細胞透過性亢進において影響を示さなかったことから、AC-17 の内皮細胞に対する保護作用のメカニズムとしてフォスフォイノシチドの加水分解の抑制が示唆された。

第 4 章では集中治療・救急医療領域において重篤な経過をたどるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌による感染に対し、複雑な薬物動態を示す患者へのバンコマイシシンの安全かつ有効な投与法への専任薬剤師の介入効果について検討した。専任薬剤師導入前後で患者の生存率、VCM 投与開始後の ICU・救命救急センター滞在日数に有意な差はなかったが、VCM 血中濃度の測定頻度を増加させることなく VCM 血中濃度の適正な治療域の維持、中毒症の回避に貢献できることを示した。

以上、本研究により多様かつ急速な容態変化を特徴とする集中治療・救急医療領域において専任薬剤師の専門的な関与が必要となる事例、傾向が明らかとなり、今後の業務発展を行う上での指針が明らかとなった。また、この領域は薬剤師関与の歴史が浅いことから、薬剤師の視点からの薬物療法上の問題点の抽出とその対策に関するエビデンスが少ない。今回、日常業務の中から、ニカルジピン注射剤誘発の静脈炎、血管造影剤誘発の肺障害についてその対策を示し、適正用量の設定が困難バンコマイシシンの厳密な投薬管理について有益な介入効果を示した。

集中治療・救急医療領域における専任薬剤師の必要性、果たすべき役割、その効果を示した論文である。